

при невротических состояниях. Автореф. дис ... д-ра биол. наук. Л., 1971.

13. Рыбников А.И. Анализ вегетативных нарушений церебрально-го генеза (клинико-электроэнцефалографическое исследование). Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1978.

14. Яхно Н.Н., Куликовский В.В. Сов. мед. 1979; 7: 39–43.

15. Докукина Т.В., Мисюк Н.Н. Картирование ЭЭГ в выявлении признаков органического поражения головного мозга у больных с психическими заболеваниями. Журн. неврол. и психиатр. 2000; 5: 39–44.

16. Koukoku M, Bigler M, Lehman D. Central components of the orienting response (EEG – reactivity) in acute and former schizophrenics, neurotics and normal. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol. Suppl. Clin. Neurophysiol. Aspects Psychopathol. Cond.*, Stockholm, 28 June 1981. Basel 1982; 20–7.

17. Koukoku M, Buttman H. *Electroencephalographische Studien der Informationsverarbeitung bei akuten und chemaligeti schizophrenen Patienten Neurotikern und psychisch Gesunden. Forsch Biol Psychi-at Dusseldorf* 23–25 Sept. 1982. Berlin, 1984; S. 35–40.

18. Поворинский А.Г. Клинико-электрофизиологические показатели функционального состояния головного мозга человека. Л., 1971.

ЕЛЕКТРОЕНЦЕФАЛОГРАФІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРИ СИНДРОМІ ХРОНІЧНОЇ ВТОМИ ТА НЕВРАСТЕНІЇ

Т.С. Яновський

Дослідили 30 хворих з невротичними і 90 з хворих з СХВ невротоподібними розладами і 20 здорових осіб (контрольна група) у віці від 17 до 50 років. Методом дослідження була електроенцефалографія з використанням спектрального аналізу електроенцефалограми (ЕЕГ), який проводився за алгоритмом прямого перетворення Фур'є. Встановлено, що для хворих характерна зміна організації електричної активності мозку, що проявляється надмірним активуючим впливом ретикулярної формації на кору більших на півкуль при функціональній недостатності ретикулоталамокортикальних активуючих систем.

Ключові слова: невротичний розлад, неврастенія, синдром хронічної втоми (CFS/CXB), ЕЕГ, спектральний аналіз ЕЕГ

BIOELECTRIC BRAIN ACTIVITY IN PATIENTS WITH NEUROTIC AND CFS NEUROSIS-LIKE DISORDERS

T.S. Yanovsky

Patients with neurotic and CFS neurosis-like disorders and twenty healthy controls, aged 17-50 years, have been examined. Spectral analysis of electroencephalography (EEG) by means of Fourier direct transformation algorithm was the basic research method. It was found that patients with functional insufficiency of reticulo-thalamo-cortical activating systems demonstrate change of brain electric activity manifesting in excessive activating effect on cortex by reticular formation.

Keywords: neurotic disorder, CFS neurosis-like disorder, EEG spectral analysis

УДК 616.899-056.7+616-039.42+616-072.8+616-076.5+575.113+577.21

А.М. Бычкова¹, Н.А. Афанасьева², Е.В. Дубровская³, Э.И. Пацкун⁴, Н.О. Зимаков-Закутная⁵,
С.Ю. Логун⁶, А.М. Кучеренко⁷, Н.В. Грищенко⁷, Л.А. Лившиц⁷

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ ПАЦИЕНТОВ С НЕДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЙ УМСТВЕННОЙ ОТСТАЛОСТЬЮ

ГУ «Научный центр радиационной медицины НАМНУ», г.Киев¹

Крымский Республиканский медико-генетический центр, г.Симферополь²

ГУ «Институт акушерства, педиатрии и гинекологии НАМН Украины», г.Киев³

Областной медико-генетический кабинет Закарпатской областной клинической больницы им. Андрея Новака, г.Ужгород⁴

Областной медико-генетический центр, г.Хмельницкий⁵

ГУ «Институт наследственной патологии НАМН Украины», г.Львов⁶

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, г.Киев⁷

Ключевые слова: умственная отсталость, клинико-генеалогическое исследование, молекулярно-генетическое исследование, геномная перестройка

Вступление

Наследственные формы умственной отсталости (-УО) являются серьезной медико-социальной проблемой, приводящей к глубокой инвалидизации пациента, что ложится психологическим и финансовым грузом как на семью больного, так и на государство. В развитых странах УО встречается у 0,5-3% населения [21;17]. Распространенность УО в Украине на 2009 год составила около 600 человек на 100 тыс. [4]. Дифференциальная диагностика данной патологии открывает перспективу превентивного и персонализированного лечения.

Цель работы в рамках международного научного проекта CHERISH 7-й рамочной программы – улучшение диагностики наследственно обусловленной умственной отсталости у детей в странах Центральной и Восточной Европы путем детального анализа известных хромосомных и генных перестроек, приводящих к развитию УО, а также поиску новых генов-кандидатов УО.

Умственная отсталость – это обобщенное понятие, включающее разнородные с клинической точки зрения явления [16]. Объединяют все эти различные состояния выявленные в раннем возрасте (в период формирова-

ния психики) нарушения адаптивного поведения, связанные с недостаточным развитием познавательных способностей. Термин «умственная отсталость» включает в себя все клинические и патогенетические варианты возникшего в раннем возрасте интеллектуального дефекта [5]. Недоразвитие интеллектуальных функций может возникать вследствие действия множества разнообразных факторов, влияющих на созревание мозга, т.о. этиология заболевания крайне гетерогенна: это и влияние неблагоприятных внешних факторов (поражение мозга во внутриутробном периоде или в первые месяцы и годы жизни), и генетические факторы (хромосомные аномалии, генные мутации и др.) [9].

Установлено, что существуют две принципиально различные группы этиологических факторов, ответственных за формирование УО. Первая группа, обуславливающая более тяжелую умственную отсталость (интеллектуальный коэффициент (IQ) меньше 50%), включает в себя факторы, которые значительно дезорганизуют формирование структуры и функции головного мозга. Это и экзогенные факторы (тяжелые травмы мозга, нейроинфекции), и генетические факторы (70-80 % случаев тяжелой умственной отсталости связано с генетическими нарушениями) [20]. Вторая группа этиологических факторов связана с более легкой умственной отсталостью (IQ между 50 и 70%) и включает неблагоприятные экологические факторы (воздействие загрязняющих веществ, радиоактивного заражения, состояние питания, социально-экономический уровень семьи, в том числе педагогическая запущенность в неблагополучных семьях). Возможен и сочетанный вариант: неблагоприятные условия внешней среды в комплексе с генетической предрасположенностью, так называемые мультифакторные заболевания. [11]

В базе данных OMIM Online Mendelian Inheritance in Man® (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>) генетические нарушения представлены хромосомными aberrациями (самой распространенной хромосомной аномалией является синдром Дауна - трисомия по 21-й хромосоме) и генными мутациями.

Хромосомные аномалии, выявляемые рутинными цитогенетическими методиками, обнаруживают у 25 % больных с умственной отсталостью. Новые технологии, такие как серийная сравнительная геномная гибридизация или array CGH (genome-wide microarray comparative genomic hybridization - array CGH), основанная на использовании биотехнологических микрочипов, позволяют выявить «микроаномалии генома» еще у 10-20% пациентов [13, 15].

Генные мутации приводят к возникновению моногенных форм умственной отсталости с различными типами наследования: аутосомно-доминантным, аутосомно-рецессивным, X-сцепленным. Выделяют моногенную синдромальную умственную отсталость, которая сочетается с другими заболеваниями и пороками развития, и несиндромальную, не связанную с другими нарушениями. В настоящее время известно около

тысячи наследственных заболеваний, которые сопровождаются умственной отсталостью, или для которых умственная отсталость является основным проявлением [24]. К самым распространенным наследственным моногенным формам умственной отсталости относятся синдром X-ломкой хромосомы, нейрофиброматоз, туберозный склероз, синдром Вильямса, синдром Корнелии де Ланге, синдром Прадера-Вилли, синдром Лоуренса-Муна-Барде-Бидля, синдром Рубинштейна-Тэйби, синдром Коффина-Лоури, большая группа синдромов, сочетающих умственную отсталость и краниофациальные аномалии, наследственная микроцефалия [24]. К развитию умственной отсталости приводит и большое количество наследственных дефектов обмена: аминокислородопатии (самая распространенная из них - фенилкетонурия), мукополисахаридозы, муколипидозы и др. Ежегодно в научной литературе появляются описания новых мутаций, приводящих к развитию умственной отсталости.

В 2007 г. был введен термин для описания нового типа полиморфизма генома человека - вариации числа копий генов (Copy Number Variants - CNVs), которые возникают в результате геномных перестроек типа делеций/дупликаций размером более 1 т.п.н. (тысяча пар нуклеотидов). В настоящее время для более 3 тыс. генов показано наличие CNVs [10;14], что составляет 10% от общего количества генов человека. Большинство из этих CNVs, не являются патогенными и представляют собой варианты нормы. Однако при некоторых патологиях показан так называемый «эффект дозы гена», который возникает в результате наличия у пациента патогенных CNVs. Развитие умственной отсталости довольно часто связывают с наличием патогенных CNVs. Точно определить, какой именно ген или гены ответственны за развитие умственной отсталости в каждом конкретном случае, очень сложно, поскольку выявляемые у пациентов хромосомные перестройки часто охватывают десятки, иногда сотни, генов. Наиболее эффективным современным скринирующим методом для выявления патогенных CNVs является анализ с использованием array-CGH высокого разрешения [15].

В проекте SHERISH принимают участие ученые из научных организаций 9 стран (Италия, Кипр, Польша, Чехия, Эстония, Литва, Украина, Россия и Армения), он рассчитан на 3 года и финансируется Еврокомиссией. Для выполнения проекта создан научный консорциум, состоящий из представителей научных организаций биологического и медицинского профиля в странах-участницах проекта. Украина в проекте представлена отделом геномики человека ИМБГ НАНУ. В каждой из организаций производится отбор пациентов с УО, их клинический, цитогенетический и молекулярно-генетический анализ с целью установления точного диагноза и поиска молекулярно-генетических причин патогенеза у каждого конкретного пациента.

Материалы и методы. От всех семей было получено информированное согласие на участие в данном

проекте в соответствии с международными нормами по биоэтике и законами, принятыми в каждой из стран-участниц. Данное исследование одобрено биоэтическим комитетом ИМБГ НАНУ.

Для сбора и анализа информации о больных и их семьях консорциумом была разработана специальная анкета, которая включала в себя несколько разделов: паспортные данные, семейный анамнез и родословную, историю протекания беременности и неонатального периода у пробанда, данные про развитие ребенка, антропометрические данные, данные общего клинического обследования и анализа фенотипа, данные психопатологического и патопсихологического обследований (определение коэффициента интеллекта), данные инструментальных обследований (в т.ч. КТ и ЯМР-обследование головного мозга, ЭЭГ, ЭХО-ЭГ и др.), данные цитогенетических, молекулярно-генетических и биохимических обследований.

Клиническое обследование

Проводилось клинико-генеалогическое и антропометрическое обследование, анализ фенотипа, психопатологическое и патопсихологическое обследование (определение коэффициента интеллекта -IQ[3]). Отбор семей осуществлялся по следующим критериям:

- наличие в семье одного и больше больных с недифференцированной умственной отсталостью ($IQ \leq 70\%$);

- отсутствие у больных известных хромосомных мутаций или клинических синдромов (синдром Дауна и др.) и генетически обусловленных биохимических нарушений (фенилкетонурия и др.);

- отсутствие у больных генных мутаций в локусах FRAXA, FRAXE, FRAXF

Сбор биологического материала

У больных с УО и всех доступных для анализа родственников был проведен забор образцов периферической крови для дальнейшего анализа (цитогенетического, молекулярно-генетического и работы с клеточными культурами). Семьи с несколькими больными, у которых не выявлены известные клинические фенотипы, были отобраны для биобанка с использованием клеточных линий лейкоцитов периферической крови представителей этих семей (38 образцов крови из 9 семей). Для этой цели образцы крови были подвергнуты криоконсервации и в настоящее время хранятся в жидком азоте.

Цитогенетическое исследование

Цитогенетический анализ выполнен на материале клеток крови классическим полумикроскопическим методом с последующим кариотипированием (G - bending, 500-800 bend). Анализировали 29 метафазных пластинок.

Молекулярно-цитогенетическое исследование хромосомных перестроек типа делеции/дупликации проводили с использованием array-CGH технологии высокого разрешения 44К (44000 зондов) и 105К (105000 зондов). Данное исследование проводится в организациях-партнерах проекта в ЕС (на Кипре и в Италии).

Молекулярно-генетическое исследование

Из образцов крови всех пациентов и их родственников проведено выделение ДНК стандартным методом с использованием фенольно-хлороформной экстракции [8]. Растворы ДНК хранятся при $T = -20^{\circ}\text{C}$.

Молекулярно-генетическое исследование количества CGG-повторов генов *FMR1* и *FMR2* проводили согласно методикам описанным ранее [1, 2, 22]. Анализ метилирования в локусах FRAXA, FRAXE, FRAXF выполнен согласно описанному ранее протоколу с собственными модификациями [2, 23].

Исследование субтеломерных геномных перестроек в локусах, ассоциированных с УО, проводили с использованием коммерческого набора SALSA MLPA kit Telomere-5 для MLPA производства MRC-Holland согласно рекомендуемому протоколу с электрофоретическим разделением фрагментов на секвенаторе ABI 3100 (Applied Biosystems, США).

Биоинформационный анализ

Анализ выявленных геномных реорганизаций выполняли с использованием биоинформационных ресурсов баз данных DECIPHER v5.1 (<https://decipher.sanger.ac.uk>), ENSEMBL (<http://may2009.archive.ensembl.org/index.html>), Database of Genomic Variants (<http://projects.tcag.ca/variation>).

Результаты и обсуждение. В соответствии с разработанными критериями по отбору пациентов проведено клинико-генеалогическое обследование пациентов и сбор образцов периферической крови, из которой выделена геномная ДНК. Консорциумом собрано 2653 образца членов 1130 семей пациентов с УО. Был создан банк образцов ДНК 270 индивидов из 95 неродственных семей из Украины (16 семейных случаев – более 1 больного в семье, 79 - спорадических) (табл.1).

Таблица 1

Характеристика украинской группы семей с УО

| Образцы ДНК всего | Больные с УО | Здоровые члены семьи | Семьи | Семейные случаи | | Спорадические случаи | |
|----------------------|--------------|-------------------------|-------|--------------------|-----------------|-------------------------|-----------------|
| | | | | Синдромальные | Несиндромальные | Синдромальные | Несиндромальные |
| 270 | 113 | 157 | 95 | 3 | 13 | 7 | 72 |

По результатам цитогенетического исследования 113 пациентов получены следующие данные: все пациенты имели нормальный хромосомный набор (46XY или 46XX); у 2 пациентов выявлены хромосомные перестройки. У пациента 031S - 46,XY,del(5)(q15q22) или del(5)(q13q15), у пациентки 057B - 46,XX,der(10). Обе выявленные перестройки были в дальнейшем уточнены при молекулярно-цитогенетическом исследовании с использованием 44К CGH-микрочипов. У обоих пациентов наблюдалась тяжелая форма УО (IQ 40-43) в сочетании с различными скелетными анома-

лиями и лицевыми дисморфизмами.

31 пробанду с УО был проведен анализ субтеломерных перестроек типа делеции/дупликации с помощью MLPA. У 6 пациентов выявлены различные хромосомные перестройки (табл.2).

Таблица 2

Субтеломерные геномные реорганизации в исследованной группе

| № образца | Статус индивида | Хромосомная перестройка |
|-----------|-----------------|-------------------------|
| 114Z | пробанд с УО | del4q; del15p |
| 140P | пробанд с УО | dupX-Yq |
| 202B | пробанд с УО | del5p |
| 225B | здоровый sibс | del21q |
| 248B | здоровый sibс | del7q |
| 259A | пробанд с УО | del16q; dup16p |

Примечание: del – делеция, dup – дупликация

Поскольку в двух случаях были выявлены хромосомные перестройки у фенотипически здоровых sibсов, в то время как эти же перестройки не были обнаружены у больных пробандов из данных семей. Можно предположить, что эти геномные реорганизации могут не затрагивать, по-видимому, функционально значимые участки генома и представлять собой нормальные CNVs. Остальные выявленные хромосомные перестройки у 3 пробандов с УО требуют более детализированного анализа для определения роли данных реорганизаций генома в патогенезе УО.

По результатам молекулярно-генетического анализа 96 пробандов установлено отсутствие экспансии CGG-повторов гена *FMR1*. Выявлены нормальные аллели гена *FMR1* содержащие от 14 до 41 CGG-повторов. Следует, однако, отметить, что у 5 пациентов были выявлены «короткие» (менее 20 CGG-повторов), или «длинные» (более 39 CGG-повторов), аллельные варианты. В данном исследовании у трех пробандов с УО из неродственных семей в генотипах присутствовали удлинённые аллельные варианты гена *FMR1* (077S♀ - 20/40 CGG-повторов, 0791B♀ - 23/41 CGG-повтор, 170B♀ - 29/40 CGG-повторов). В одной семье у двух пациентов с УО были идентифицированы короткие аллельные варианты гена *FMR1* (012B♂ – 14 CGG-повторов, 012B♀ - 14/30 CGG-повторов). Такие аллели по некоторым литературным данным могут быть ассоциированы с различными фенотипическими нарушениями, такими как преждевременное истощение яичников (ПИЯ), болезнь Паркинсона, различные атаксии и др.[6, 7, 12, 19].

У 66 пациентов с УО мужского пола был проведен анализ экспансии CGG-повторов гена *FMR2*. Примененная в исследовании методика не позволяет проводить анализ у индивидов женского пола, а также нет

возможности точного определения количества CGG-повторов в исследуемом образце. Во всех образцах был выявлен аллельный вариант гена *FMR2*, содержащий неэкспансированное количество CGG-повторов (- норма). Кроме того, всем пациентам мужского пола был проведен анализ метилирования трех «ломких» локусов X-хромосомы (FRAXA (*FMR1*), FRAXE (*FMR2*), FRAXF). Наличие метилирования данных хромосомных участков у мужчин ассоциировано с синдромом ломкой X-хромосомы. Ни у одного из проанализированных пациентов не было выявлено метилирования исследованных локусов. Результаты проведенного анализа генов *FMR1* и *FMR2*, а также локусов X-хромосомы позволили исключить у всех пациентов синдром ломкой X-хромосомы, что было одним из обязательных условий включения пациентов в дальнейшее исследование.

Следующим этапом работы было проведение молекулярно-цитогенетического скрининга микрохромосомных перестроек с использованием высокоразрешающего CGH-анализа. На данный момент обследовано по 1 пациенту с УО из 48-ми неродственных семей из Украины (пробанды). У 26-ти пробандов не были выявлены перестройки генома. Остальные результаты CGH-анализа представлены в таблице 3.

У 9-ти пробандов (3 мальчика и 6 девочек в возрасте от 2 до 16 лет) удалось выявить патогенные перестройки, захватывающие известные гены-кандидаты, ассоциированные с патогенезом УО. Размер части выявленных перестроек настолько велик (охватывает от нескольких десятков до нескольких сотен генов), что на данный момент не представляется возможным выделить конкретные гены, перестройки в которых могут быть ассоциированы с развитием УО у данных пациентов. Среди возможных кандидатов в первую очередь следует выделить гены, кодирующие белковые продукты, которые задействованы в процессах развития и функционирования ЦНС: *MESP2* – ген транскрипционного фактора, мутации в котором ассоциированы с синдромом Ретта, *SATB2* – ген регулятора транскрипции, *RIMBP2* – ген белка-партнера нейромедиатора, *FPA1* и *ANKMY2* – гены транспортных факторов, участвующих в сигнальных каскадах. Приведенные данные являются веским доказательством того, что умственная отсталость в проанализированных семьях может иметь генетическую природу и развиваться вследствие реорганизаций генома.

Результаты сравнительного анализа клинических данных продемонстрировали также высокую фенотипическую гетерогенность УО у обследованных пациентов. Единственным общим признаком для всех больных является умственная отсталость. Важно отметить, что среди данной группы больных были как пациенты женского пола (♀) – 9, так и мужского (♂) – 3. Возраст больных колебался от 2-х до 42-х лет, в основном это были дети и подростки от 2-х до 16 лет (11 больных). В 3-х семьях пробандов с выявленными патогенными перестройками диагностированы и другие члены семьи

Таблиця 3

Геномные реорганизации, выявленные у пробандов с УО (CGH-скрининг)

| № про-банда | Тип пер. | Хромосомный участок | Размер т.п.н. | Фенотипический эффект | Патогенез, гены |
|-------------|----------|---------------------|---------------|----------------------------|--|
| 053A | Dup | Xp22.31 (3 копии) | 1431 | не выяснен | Новый синдром УО, возможно вовлечены гены HDHD1 (нуклеотидный обмен), STS (обмен стероидных гормонов), PNPLA4 (обмена липидов) |
| 063A | Dup | 5p13.3 | 1039 | не патогенный | Новый полиморфизм |
| 071A | Del | 2q37.3 | 17 | не патогенный | Частичное перекрытие с патогенными CNV |
| 040B | Dup | 11q22.3 | 1088 | не выяснен | Новый полиморфизм |
| | Dup | 11q22.3 | 1087,5 | не патогенный | Известный ранее полиморфизм |
| 050B | Dup | 8p23.1-p23.2 | 694 | уточняется | Новый полиморфизм, возможно патогенный |
| 057B | Del | 10q26.3-qter | 2257 | патогенный | Перекрытие с патогенными CNV (44 гена-кандидата) |
| | Dup | 2q35-qter | 24378 | патогенный | Перекрытие с патогенными CNV (325 генов-кандидатов) |
| 083B | Del | 2q37.3 | 17 | не патогенный | Частичное перекрытие с патогенными CNV |
| 088B | Del | 2q37.3 | 17 | не патогенный | Частичное перекрытие с патогенными CNV |
| 091B | Dup | Xp22.12-p22.11 | 39 | не выяснен | Новый полиморфизм |
| | Dup | 5p13.3 | 114 | не патогенный | Новый полиморфизм |
| 097B | Del | 6pter-p25.3 | 34 | не патогенный | Новый полиморфизм, |
| | Del | 2q37.3 | 17 | не патогенный | Частичное перекрытие с патогенными CNV |
| 112B | Del | Xq28 | 87 | возможно патогенный | Внутри перестройки ген MECP2 |
| 119B | Del | 2q32.3-q33.1 | 5013 | возможно патогенный | Перекрытие с патогенными CNV |
| 124B | Del | 1p36.32-pter | 2803 | патогенный | Перекрытие с патогенными CNV (74 генов) |
| 143B | Del | 19q12 | 507 | не выяснен | Новый полиморфизм, частично перекрывается с патогенными CNV |
| 160B | Del | 1p36.13 | 107 | не патогенный | Новый полиморфизм |
| | Dup | Xp21.1 | 191 | не выяснен | Новый полиморфизм |
| 154P | Del | 2q37.3 | 17 | не патогенный | Частичное перекрытие с патогенными CNV |
| 031S | Del | 5q15-q22.1 | 18109 | возможно патогенный | Не возможно определить из-за большого размера перестройки |
| 044S | Del | 8pter-p23.1 | 6720 | патогенный | Перекрытие с патогенными CNV (26 генов) |
| | Dup | 8p23.1-p21.2 | 14417 | патогенный | Не возможно определить из-за большого размера перестройки |
| 114Z | Del | 16p12.2 | 477 | не выяснен | Известный патогенный CNV |
| 136Z | Del | 2q37.1-qter | 9788 | патогенный | Перекрытие с патогенными CNV (103 гена) |
| | Dup | 3q27.3-qter | 11523 | патогенный | Перекрытие с патогенными CNV (90 генов) |
| 003B* | Dup | 12q24.33 | 249 | возможно патогенный | Новый полиморфизм, внутри перестройки ген RIMBP2 |
| 022B* | Dup | 7p21.1 | 364 | возможно патогенный | Новый полиморфизм, внутри перестройки гены FPA1 и ANKMY2 |

Примечание: Образцы с «*» проанализированы с использованием 105K-микрочипов, остальные образцы – 44K-микрочипов. Del – делеция, Dup – дупликация

с умственной отсталостью. В одной семье кроме пробанда (003ВФ) была больная сестра (004ВФ), во второй - пробанд 022ВФ и ее мать (023ВФ), в третьей - пробанд (057ВФ) и родная тетя пробанда по линии отца (096ВФ). У 4-х больных отмечалась легкая умственная отсталость (IQ от 58 до 64), у 9 - выраженная умственная отсталость (IQ от 40 до 50). У 6-ти из них преобладало недоразвитие речи. Из других психопатологических симптомов у 3-х больных отмечалась гиперактивность, у 5-ти - аутистические черты в поведении, у 2-х - повышенная агрессивность, у 2-х - апатический синдром, у 1-го - большого судорожный синдром.

Фенотип 2-х из 12-ти больных можно отнести к синдромальной форме умственной отсталости (умственная отсталость сочеталась с врожденными пороками развития и большим количеством стигм дизэмбриогенеза, в том числе и специфических). У пробанда 124В (делеция *1p36.32-pter*; охватывающая 74 гена) отмечался фенотип, подобный синдрому Корнелии де Ланге (-СКЛ), а именно узкий лоб, сросшиеся брови, гипотелоризм, монголоидный разрез глаз, нарушение прикуса и др. Согласно литературным данным, 56% случаев синдрома Корнелии де Ланге являются моногенными формами, обусловленными наличием мутаций в трех генах – *NIPBL*, *SMC1A*, *SMC3*, которые кодируют белки семейства когезинов и располагаются на 5, X и 10 хромосомах соответственно [18]. Что касается остальных 44% - их генетическая природа неизвестна. Важно отметить, что ни один из ранее выявленных генов-кандидатов СКЛ не находится в делетированном участке 1-й хромосомы. Таким образом, есть основания ожидать, что при более детальном молекулярно-генетическом анализе пациентов с фенотипом, подобным фенотипу пациента 124В, а также биоинформационном анализе функций всех генов локуса *1p36.32-pter* удастся установить новые гены, ассоциированные с УО и СКЛ. Например, в зоне делеции, обнаруженной у пробанда 124В, находится, ген *TNFRSF18*, кодирующий белок апоптического каскада, который экспрессируется в тканях головного и спинного мозга. Поэтому нарушения в этом белке могут обуславливать развитие УО. У второго пробанда (057В) (две патогенные делеции *10q2.3-qter* и *2q35-qter*) выраженная УО сочеталась с множественными скелетными дисплазиями (удлиненные конечности, кифоз, сколиоз грудного и поясничного отделов позвоночника, деформация пальцев стоп, гипоплазия ногтевых фаланг пальцев рук) и стигмами дизэмбриогенеза (микроцефальная форма черепа, тригоцефалия, монголоидный разрез глаз, эпикант, уплощенное переносье, гиперплазия нижней челюсти, асимметричные деформированные ушные раковины). У родной тети этого пробанда, также больной с УО, отмечался аналогичный фенотип. В литературе и известных базах данных фенотипической картины, полностью соответствующей описанной в данной семье, нами найдено не было, за исключением клинического описания пациентов с моносомией 2q37 в базе данных DECIPHER. Далее в статье мы подробно оста-

новимся на этой хромосомной перестройке.

Из остальных 11 больных у 5 не было выявлено врожденных пороков развития и стигм дизэмбриогенеза, у 6 они имелись в разном количестве и сочетании: у 2-х больных по 2 стигмы, у 2-х по 3 стигмы, у 2-х – 6 стигм. Это были: эпикант (у 3-х пробандов), высокое небо (у 4-х пробандов), диспластичные ушные раковины (у 2-х пробандов), антимонголоидный разрез глаз (- у 2-х пробандов), врожденный птоз и страбизм (у 1-го пробанда), микроретрогнатия (у 1-го пробанда), врожденный порок сердца (у 1-го пробанда), подковообразная почка (у 1-го пробанда), крипторхизм (у 1-го пробанда). Специфических стигм дизэмбриогенеза и какой-либо специфической их комбинации, характерной для известного синдрома, выявлено не было.

Следует отметить, что, по результатам анализа базы данных DECIPHER, некоторые из выявленных перестроек не обозначены как патогенные. Эти перестройки не захватывают известных в настоящее время функционально значимых участков генома или были выявлены у условно здоровых индивидов из контрольной группы. Важно, однако, отметить, что для индивидов, образцы ДНК которых в проекте НарМар использованы в качестве контрольной группы, не собрано достаточно медицинских данных для исключения у них патологий (в т.ч. УО). Следовательно, факт выявления геномной реорганизации у индивидов из контрольной группы не может однозначно свидетельствовать в пользу нейтральности («непатогенности») данной перестройки. Поэтому, интересным является тот факт, что у пациентов с УО из 4 неродственных семей из украинской группы, а также у 7-ми пациентов в странах-партнерах проекта (2 из Литвы, 4 из Италии, 1 из России) выявлена одна и та же геномная реорганизация – частичная моносомия по хромосомному участку 2q37.3 размером 17,4 тысяч пар нуклеотидов (- т.п.н.). Общим для всех описанных выше пациентов с делецией 2q37.3 является то, что практически у всех пробандов наблюдалась легкая УО, преимущественное недоразвитие речи, аутистические черты в поведении. Из фенотипических особенностей чаще всего отмечается эпикант, также у всех похожая форма носа с утолщенной спинкой, что нельзя отнести к дизэмбриогенетическим стигмам, но является общей особенностью фенотипа.

На данный момент выявленная реорганизация классифицируется как «не патогенная». Однако следует отметить, что более обширные делеции данного хромосомного региона (около 3 млн.п.н.) являются патогенными. У пациентов с такой моносомией 2q37, по литературным данным, наблюдается различная степень УО в сочетании с лицевым дисморфизмом (круглое лицо, глубоко посаженные глаза, тонкая нижняя губа), с частыми проблемами в поведении, в 50% наблюдается брахиметафалангизм, в некоторых случаях у пациентов имеются врожденные пороки сердца и др. дефекты (<https://decipher.sanger.ac.uk/syndrome/44>). Заслуживает внимания тот факт, что у пациент-

ки, описание которой было приведено выше (057В), была также выявлена обширная делеция 2q35-qter, классифицированная как «патогенная». Данная делеция включает и регион 2q37, и, что важно, клиническая картина заболевания частично совпадает с литературными данными по фенотипам пациентов с моносомией 2q37. Это также может свидетельствовать в пользу функциональной значимости генов хромосомной области 2q37 в патогенезе УО.

Интересно отметить, что делеция 17,4 т.п.н. в локусе 2q37.3, выявленная у наших пациентов, захватывает единственный ген *ATG4B*, кодирующий белок из семейства цистеиновых протеаз, участвующих в процессе внутриклеточной аутофагии, в частности белков-партнеров рецептора гамма-аминомасляной кислоты (нейромедиатора). Логично предположить, что нарушения в гене, кодирующем белок с вышеперечисленными функциями, может быть причиной патогенеза, приводящего к УО. Однако, для подтверждения данной гипотезы необходим детализированный анализ как самой хромосомной перестройки, так и функций продукта гена *ATG4B* на биохимическом уровне.

Выводы

Результаты наших исследований свидетельствуют о том, что в сложном процессе формирования УО может быть задействован целый спектр генов, участвующих в формировании и функционировании ЦНС (гены нейрорецепторов, нейромедиаторов и т.д.), что свидетельствует о высокой генетической гетерогенности наследственных форм умственной отсталости. Дальнейшие исследования в рамках проекта CHERISH, а также других подобных проектов, проведенные с использованием арсенала новейших молекулярно-генетических методов, таких как полногеномное секвенирование (-Next Generation Sequencing – NGS) позволят более точно выделить гены-кандидаты и конкретные мутации в них, ассоциированные с умственной отсталостью. Это предоставит возможность существенно улучшить диагностику, а, в перспективе, и индивидуализированное лечение пациентов с данной патологией.

Авторы благодарны Dr. C. Graziano, Dr. P. Magini (University of Bologna), а также Dr. P. Patsalis, Dr. J. Hettinger (The Cyprus Institute of Neurology and Genetics) за проведение CGH-скрининга пациентов с УО из Украины.

Данное исследование финансируется Европейским Союзом в рамках 7-й рамочной программы (соглашение № 223692).

Литература:

1. Бичкова Г.М., Лівшиць Г.Б., Лівшиць Л.А., Скибан Г.В., Барилляк І.Р., Сопко Н.І., Хажиленко К.Г., Мозгова О.М Роль мутацій гена інгібіну, генів родини глутатіон-S-трансферази та гена *FMR1* у розвитку деяких форм репродуктивних порушень у жінок// Збірник наукових праць Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології, Том1, Київ 2007, С. 410–414.

2. Грищенко Н.В., Малярчук С.Г., Экичан А.Ю., Бычкова А.М., Лівшиць Л.А. Анализ метилирования промоторной области гена *FMR1* у больных с синдромом Мартина-Белла из Украины // *Цитология и генетика*, 2002, т. 36, № 4, с.53-56.
3. Дружинин В. Психология общих способностей.- С.-Пб.: Психология, 1999. с.117-131.
4. Зінченко О.М., Паламарчук П.В. Динаміка основних показників стану психічного здоров'я населення Херсонської області // *Архів психіатрії*. 2011. Т17, №1(64). С.31-37.
5. Ковалев В.В. Психиатрия детского возраста.- М.: Медицина, 1989. 607с.
6. Лівшиць Г.Б., Кравченко С.А., Грищенко Н.В., Судомо І.А. Використання методів ДНК-аналіза для діагностики спадкових форм виснаження яєчників // *Цитология и генетика*. 2005. Т.39 №2 с.60–64.
7. Лівшиць Г.Б., Кравченко С.А., Татарський П.Ф., Судомо І.О., Лівшиць Л.А. Молекулярно-генетичні дослідження порушень природної та стимульованої овуляції // *Цитология и генетика*. 2000. № 2. с. 63-69.
8. Маниатис Т., Фрич Е.Е., Сэмбрук Ж. Молекулярное клонирование / пер. с англ. А. А. Баева, К.Г. Скрыбина. М.: Мир, 1985. 420 с.
9. Маринчева Г.С., Гаврилов В.И. УО при наследственных болезнях. М.: Медицина. 2002. 412 с.
10. Beckmann J.S., Sharp A.J., Antonarakis S.E. CNVs and genetic medicine (excitement and consequences of a rediscovery) // *Cytogenet Genome Res*. 2008. V.123. P.7-16.
11. Chelly J., Khelfaoui M., Francis F. et al. Genetics and pathophysiology of mental retardation // *Eur. J Hum. Genet*. 2006. № 14. P. 701–713.
12. Costa A., Gao L., Carrillo F., Cбceres-Redondo M.T. et al. Intermediate alleles at the *FRAXA* and *FRAXE* loci in Parkinson's disease // *Parkinsonism Relat Disord*. 2011. V.17, N.4. P.281-284.
13. Feuk L., Carson A.R., Scherer S.W. Structural variation in the human genome // *Nat. Rev. Genet*. 2007. №7. P. 85–97.
14. Kehrer-Sawatzki H., Cooper D. Preface // *Cytogenet Genome Res*. 2008. V.123. P.5-6.
15. Koolen D.A., Pfundt R., de Leeuw N. et al. Genomic microarrays in mental retardation: a practical workflow for diagnostic applications // *Hum. Mutat*. 2009. №30. P. 283–292.
16. Kozma, C. & Stock, J. "What is mental retardation." In Smith, R.S. *Children with Mental Retardation: A Parent's Guide*. Maryland: Woodbine House. 1992.
17. . . . The epidemiology of mental retardation: challenges and opportunities in the new millennium // *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*. 2002. V.8, N.3. P.117-34.
18. Liu J., Baynam G. Cornelia de Lange syndrome// *Adv Exp Med Biol*. 2010. V.685. P.111-123.
19. Patsalis P.C., Sismani C., Hettinger J.A. et al. Frequencies of "grey-zone" and premutation-size *FMR1* CGG-repeat alleles in patients with developmental disability in Cyprus and Canada // *Am J Med Genet*. 1999. V. 84, N. 3. P.195-201.
20. Raymond F.L., Tarpey P. The genetics of mental retardation // *Hum. Mol. Genet*. 2008.- V. 15.- Spec № 2. P.110–116.
21. Roelvelde N., Zielhuis G.A., Gabreëls F. The prevalence of mental retardation: a critical review of recent literature // *Dev Med Child Neurol*. 1997. V.39, N.2. P.125-157.
22. Santos C.B., Costa Lima M.A., Pimentel M.M.G. A New PCR Assay Useful for Screening of *FRAXE/FMR2* Mental Impairment Among Males // *Human Mutation* 2001. V.18. P.157-162.
23. Strelnikov V., Nemtsova M., Chesnokova G. et al. A simple multiplex *FRAXA*, *FRAXE* and *FRAXF* PCR assay convenient for wide screening programs.// *Human Mutation* 1999. N13. p.166-169.
24. van Karnebeek C.D., Jansweijer M.C., Leenders A.G. et al. Diagnostic investigations in individuals with mental retardation: a systematic literature review of their usefulness// *Eur J Hum. Genet*. 2005. №13. P. 6–25.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНЕ ОБСТЕЖЕННЯ ПАЦІЄНТІВ З НЕДИФФЕРЕНЦІЙОВАНОЮ РОЗУМОВОЮ ВІДСТАЛІСТЮ

**А.М. Бичкова, Н.А. Афанасьєва, Е.В. Дубровська, Е.І. Пацкун, Н.О. Зімак- Закутняя,
С.Ю. Логуш, А.М. Кучеренко, Н.В. Грищенко, Л.А. Лівшиц**

Представлені результати клініко-генеалогічного, цитогенетичного та молекулярно-генетичного дослідження 113 пацієнтів з 96 родин із різними формами розумової відсталості з України, яке проводилося в рамках міжнародного проекту CHERISH 7-ої рамкової програми. За результатами цитогенетичного дослідження, а також MLPA-аналізу субтеломерних ділянок та CGH-скринінгу виявлено геномні реорганізації у 28 пацієнтів із різними клінічними фенотипами. Отримані результати свідчать про високу генетичну гетерогенність спадкових форм розумової відсталості.

Ключові слова: розумова відсталість, клініко-генеалогічне дослідження, молекулярно-генетичне дослідження, геномна перебудова

MOLECULAR GENETIC STUDY OF PATIENTS WITH NON-DIFFERENTIATION MENTAL RETARDIATION

**A. Bychkova, N. Afanasjeva, E. Dubrovskaya, E. Patskyn, N. Zymak-Zakytnaya,
S. Logysh, A. Kycherenko, N. Grischenko, L. Livshits**

The results of clinical, genealogical, cytogenetic and molecular genetic studies of 113 patients from 96 families with different forms of mental retardation from Ukraine are presented. Genome rearrangements were found in 28 patients with different clinical phenotypes using cytogenetic analysis, MLPA analysis of subtelomeric regions and array CGH screening. Obtained results show the strong genetic heterogeneity of hereditary forms of mental retardation.

Keywords: mental retardation, clinical genealogical study, molecular genetics study, genome rearrangement

УДК 616.8-008

І.В. Лазебник

ТРИВОЖНІ РОЗЛАДИ, ГІПЕРВЕНТИЛЯЦІЯ, МЕТАБОЛІЧНИЙ СИНДРОМ X

Український науково-дослідний інститут соціальної й судової психіатрії та наркології МОЗ України

Ключові слова: психосоматичні розлади, тривожні розлади, метаболічний синдром X

Вступ

Багато дослідників пояснюють появу деяких симптомів метаболічного синдрому X та тривоги наявністю гіпервентиляційного синдрому (В.К. Бутейко, М.М. Бутейко, Richard O. Cannon, Paolo G. Camici, Stephen E. Epstein, та інш.), який можна об'єктивізувати завдяки встановленню зниження парціального тиску вуглекислого газу в крові чи альвеолярному повітрі під час загострення симптоматики. Так N. P. Lewis, S. J. Hutchison, N. Willis, A. H. Henderson в своєму дослідженні (1991) виявили зв'язок розвитку метаболічного синдрому з гіпервентиляційним синдромом, гіпервентиляційна проба викликала в них кардіоішемічні зміни на ЕЕГ, характерні для стенокардії напруги.

Гіпервентиляція супроводжується глибокими метаболічними змінами, які проявляються в газовому алкалозі і метаболічному ацидозі. Змінення основних констант гомеостазу викликає поліорганні і полісистемні клінічні порушення: серцево-судинні, шлунково-кишкові, сечостатеві, багато численні порушення з боку центральної та периферичної нервової системи, м'язів. Виникає спазм судин та пролонгована вазоконстрикція. Олужнення крові та мозкової тканини призводить до того, що спорідненість гемоглобіну до кисню збільшується, погіршується дисоціація окси-гемоглобіну, тобто відщеплення кисню від гемоглобіну відбувається з великими труднощами. І навіть при наявності в крові достатньої кількості кисню гемоглобін міцно утримує його і ускладнює перехід до тканин мозку.

Зазначеними зрушеннями кислотно-основного стану пояснюються багато в чому і неспецифічні електрокардіографічні відхилення (переважно в грудних

відведеннях) в клініці, невротичних і псевдоневротических станів: спонтанні добові коливання векторів QRS і Г у межах фізіологічних показників (відповідно до змін афективного статусу хворих), інверсія позитивного зубця Т, депресія сегмента ST і в ряді випадків транзиторні порушення серцевого ритму (аж до мерехтіння передсердь) на висоті емоційної гіпервентиляції. Аналогічні електрокардіографічні порушення відзначаються у цих хворих і після виконання тесту з гіпервентиляції (швидких форсованих вдихів з короткими видихами протягом 30-45 с). Позитивні результати проби з гіпервентиляції і негативні - тесту з дозованим фізичним навантаженням дозволяють думати про психогенний характер електрокардіографічних зрушень. Попередній прийом транквілізаторів перешкоджає зсуву сегмента ST донизу і негативізації зубців Т, що також може бути використано для диференціації електрокардіографічних змін, зумовлених гіпервентиляцією або органічним ураженням серцевого м'яза.

Розуміння ролі емоційного фактора у виникненні та прогресуванні соматичних розладів, а також протилежний процес – виникнення розладів психоемоційної сфери як відповідь на гостре чи хронічне захворювання внутрішніх органів, набуває особливої важливості на сучасному етапі, коли відбувається збільшення частоти межових нервово-психічних розладів у всьому світі. Особливо від цього страждають хворі на хронічні захворювання, які потребують тривалої кваліфікованої медичної допомоги та медикаментозної терапії. В цілому кожен момент психогенні симптоми виявляються у 50% (!) населення. Протягом же всього свого життя з ними стикаються 80-95% пацієнтів, тобто