

***КЛІНІЧНА ГЕНЕТИКА  
I  
ПЕРИНАТАЛЬНА ДІАГНОСТИКА***

---

***CLINICAL GENETICS AND PERINATAL  
DIAGNOSTICS***

***№ 2 (5) (2018)***

***МОНОГЕННІ ХВОРОБИ***

***ХРОМОСОМНІ ХВОРОБИ***

***МУЛЬТИФАКТОРІАЛЬНІ ЗАХВОРЮВАННЯ***

***РІДКІСНІ СПАДКОВІ ХВОРОБИ.  
КЛІНІЧНІ СПОСТЕРЕЖЕННЯ***

***ЛЕКЦІЇ***

***МОЛОДІЖНА НАУКА. ПРЕЗЕНТАЦІЇ***

**КЛІНІЧНА ГЕНЕТИКА І ПЕРИНАТАЛЬНА ДІАГНОСТИКА**

медичний науково-практичний журнал

**КЛИНИЧЕСКАЯ ГЕНЕТИКА И ПЕРИНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА**

медицинский научно-практический журнал

«CLINICAL GENETICS AND PERINATAL DIAGNOSTICS»

medical scientific journal

**ГОЛОВНИЙ РЕДАКТОР:****Гречаніна Юлія Борисівна** — д.м.н., лауреат державної премії України, завідувач кафедри медичної генетики ХНМУ**ЗАСТУПНИК ГОЛОВНОГО РЕДАКТОРА:****Тарабан Ігор Анатолієвич** – д.м.н., професор кафедри хірургії №1 ХНМУ**НАУКОВІ КОНСУЛЬТАНТИ:****Гречаніна Олена Яківна** – Член-кореспондент НАМН України, д.м.н., професор кафедри медичної генетики Харківського національного медичного університету, Директор Українського інституту клінічної генетики ХНМУ, Генеральний директор Харківського міжобласного спеціалізованого медико-генетичного центру – центру рідкісних (орфанних) захворювань**Лісовий Володимир Миколайович** – Член-кореспондент НАМН України, д.м.н., професор, Ректор Харківського національного медичного університету.**Запорожан Валерій Миколайович** – Академік НАМН України, д.м.н., професор, лауреат Державної премії України в галузі науки і техніки.**Бужієвська Тамара Іванівна** – д.м.н., професор, лауреат Державної премії України, член Нью-Йоркської академії наук**Горovenko Наталія Григорівна** – Член-кореспондент НАМН України, д.м.н., професор, завідувач кафедри медичної та лабораторної генетики НМАПО імені П.Л. Шупика**Гордієнко Ірина Юрївна** – д.м.н., професор, завідувач відділення медицини плода ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України»**Reuben Matalon** – M.D., Ph.D. Departments of Pediatrics and Biochemistry and Molecular Biology University of Texas Medical Branch Galveston, Texas**Nima Rezaei** – M.D. Tehran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran. Ph.D. Clinical Immunology and Human Genetics, Department of Infection and Immunity, School of Medicine and Biomedical Sciences, The University of Sheffield, UK**НАУКОВІ РЕДАКТОРИ РОЗДІЛІВ ЖУРНАЛУ:**

моногенні хвороби – к.м.н. Здибська О.П., д.м.н. Гречаніна Ю.Б.

хромосомні хвороби — к.м.н. Бугайова О.В., к.б.н. Іванова І.Б.

мультифакторіальні захворювання — к.м.н. Молодан Л.В., Адамян Л.М.

рідкісні спадкові хвороби — д.м.н. Гречаніна Ю.Б., к.м.н. Здибська О.П.

**РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ:**

Акопян Г.Р., Жадан І.А., Звягінцева Т.В., Молодан Л.В., М'ясоєдов В.В., Назаренко Л.Г., Сенаторова Г.С., Іванова І.Б. (відповідальний секретар)

**РЕДАКЦІЙНА РАДА:**

Волосовець О.П. (Київ), Даниленко Н.Г. (Мінськ), Папіташвілі А.М. (Тбілісі, Грузія), Святова Г.С. (Алмати, Казахстан), Семеонова М. (Софія, Болгарія).

*Рекомендовано Вченою радою Харківського національного медичного університету**Протокол №5 від 17 травня 2018 року*

Журнал «Клінічна генетика і перинатальна діагностика» є наступником журналу «Ультразвукова перинатальна діагностика», який засновано у 1993 р.

Журнал «Клінічна генетика і перинатальна діагностика» засновано у липні 2012 р.

Свідоцтво про реєстрацію №19197-7996Р

**ВИДАВЦІ:**

Український інститут клінічної генетики ХНМУ

ТОВ «Учбово-науковий і лікувально-діагностичний центр «ГЕНОМИКА»

Адреса для листування: 61022, Харків, пр. Незалежності, 13,

Український інститут клінічної генетики ХНМУ

Контактний телефон: +38 (057) 705-16-74

E-mail: [kgapd@ukr.net](mailto:kgapd@ukr.net)

Усі статті рецензовані. Розмноження та копіювання опублікованих матеріалів допускається лише з письмового дозволу редакції.

*Yu.B. Grechanina*

*Department of medical genetics Kh.N.M.U.*

## STUDYING INFLUENCE OF MTDNA POLYMORPHISMS AND POLYMORPHIC GENE VARIANTS C677T MTHFR AND A66G MTRR ON CLINICAL MANIFESTATIONS OF MITOCHONDRIAL DYSFUNCTION

**Abstract:** The research concept of clarifying diagnosis MTHD based on estimates population-genetic characteristics – frequency polymorphisms mtDNA polymorphic variants of genes and enzymes folate cycle. Found variable positions with high volatility and rate of mutations that affect the occurrence of sporadic mutations. It is shown that the population of Ukraine is characterized such distribution of genotypes and allele frequencies of genes MTHFR (C677T, A1298S, G1793A); MTRR (A66G); RFC-1 (G80A), which is characterized by high proportion homozygote MTRR (A66G) mutant allele and 66G, which due to high frequency of lesions of the central nervous system. The character of clinical signs of mtDNA polymorphism carriers – polyorganics, prohediyent, clinical polymorphism, genetic heterogeneity of primary delays energothropic bodies. Established separate nosological form MTHD – Leigh syndromes, Leber, Kairms-Seyr, MERRF, MELAS, NARP, confirmed by clinical and genetic, morphological them, biochemical, enzyme, molecular genetic methods. We describe the main clinical features of carriers of polymorphic variants of genes C677T MTHFR and A66G MTRR. These associations MTHD with disabilities re-methylation of methionine as a possible manifestation of altered epigenetic status. Found syntropy phenomenon and proved that the effect on the expression of mtDNA polymorphisms MTHD is due to replace their adaptive role in pathogenic against altered methylation as a major modifier of the genome in violation folate cycle and the presence of certain triggers.

**Key words:** mitochondrial dysfunction, mtDNA polymorphisms, polymorphic variants of genes of folate cycle, methionine's re-methylation.

Genetics and epygenetics develops quickly and has revolutionary character. New methods of amplification, sequencing give new knowledge every year. It was defined that all genes are fragments of DNA molecule, some of them are recorded in RNA molecule; not all genes encode proteins, some of them have ribosomal and transport RNA as an end product; not all biochemical reactions are controlled by proteins, RNA molecules are as catalyzers; not all proteins are encoded by one gene, several genes take part in their creation; not all 64 codons determine amino acids, three of them mean a translation end; not all DNA fragments are gene parts. There is absurd or egoistical DNA in genome – random sequences of nucleotides or multiple repeats, which are seldom transcribed to informational DNA.

Wide human variability, which is caused by quality and quantity changes of chromosomal DNA sequence, is one of the most significant characteristics of human genome variability forms or it can also be epigenetic phenomena which are determined at molecular level by chemical modification of DNA sequences and chromatin. Hereditary diseases become a leading problem of medicine and mitochondrial dysfunctions (MTChD) are in the lead in scientific investigations of a great number of scientists [1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10].

Multiorgan lesions in MTChD, progreduated and severe clinical course with the final disability, an increasing number of nosologic forms possessing clinical polymorphism and genetic heterogeneity presence of energy metabolic disturbance not only in inherited but also acquired pathological conditions raised the issue about determination mitochondrial pathology. And only intense study of mitochondrial diseases has allowed to generalize this meaning and to define it as MTChD – a typical pathological process, there is no nosologic and etiologic specificity for it and also to consider mitochondrial dysfunction as a new pathobiochemical mechanism of neurodegenerative disorders of a wide range.

The research of this human pathology was transferred to the study of the interaction of gene mutations, the environment, epigenetic factors, nuclear and mitochondrial genomes.

A modern human pathology changes its character, acquires a widespread multiorgan and progreduated course. Y.P. Lisicin untied this phenomenon by the theory of «diseases of civilization and social dysaptation» in 2010, and V. M. Bondar defined this meaning as dizadaptoz – a clinical evidence that the requirements, which environment exposes to a body, don't correspond with genetically established adaptational possibilities of a great part

---

---

of population, that is expressed by an increase of a general disease incidence, the frequency of rare hereditary and nonhereditary diseases, nosological forms, which hadn't previously met.

S.D. Ellis et al. (2010), E.Y. Grechanina (2011) consider that epigenetic status disadaptoz. Epigenetic processes include multiple genome modifications and first of all a proved process of cytosine bases, which take an active part in gene expressions. Epigenetic modifications are able to fix in a body, influence on a body and genome fate and can be hereditary. An intense development of epigenetic modifications researches has shown that genetics and epigenetics are suitable to each other. Epigenesis is under influence of biochemical reactions and regulates hypo-, hyper- and methylation of cytosine bases. Switching genes on and off, acetylation of chromatin proteins, which are necessary for assembly and packaging of DNA, are also a mechanism of epigenetic status realization.

I.Y. Yurov has recently established, that gene and chromosome instability in brain cells, is one of possible genetic mechanism of autism, schizophrenia, ataxia-telangiectasia, Alzheimer disease manifestation. The main modifier of genome is methylation, which occurs in result of reverse chemical modification of cytosine (C) by joining methyl group with SAM (S – adenosylmethionine) to carbon, and is included in regulation process of gene expression and in support of gene stability.

Methionine plays an especial role in epigenetic regulation, methionine deficiency causes SAM deficiency (SAM is unique donor of methyl groups). Methionine, in turn, is concentrated in mitochondrial membrane and enhance antioxidant characteristics of cells, has overcome evolutionary selection by building antioxidant protein for respiratory chain complexes. Oxidative stress has given the genetic code of mitochondria.

Participation in these processes of folate cycle as the complex of cascade has been determined, globality of this problem for human health and diseases, but mechanism of folate cycle influence on multifactorial, monogenic (including mitochondrial) and chromosomal pathology is still unknown. It was determined that methyl groups deficit is related with polymorphism of folate cycle because they condition various functional significance of protein products depending on a wide range of biochemical reactions and are considered as risk factors for a great number of diseases.

Triggers, such as a diet, infection, smoking, alcohol and stress, are become important factors, which influence on epigenetic status. The role of triggers in MTChD manifestation still remains unknown.

Mitochondrial genetics is closely associated with epigenetics. It was found out, that histones – high main proteins, which form complexes with DNA, created by nucleosomes and chromatin.

A range of post-translational modifications of histones determines chromatin function, acetylation, methylation, phosphorylation and ubiquitination. In S. Goto's opinion, carbonylation of histones occurs more quickly when a diet is limited and this decreases oxidative stress.

Thus, modern knowledge has combined mitochondrial pathology with a complex system of epigenetic status with participation of methionine metabolism. Therefore studying pathogenic pathways of MTHD formation on basis of genetic surroundings evaluation acquires theoretical and practical meaning.

Bioenergy metabolism disorder becomes more common in human populations, the number of patients with MTHD is being increased and their frequency is 1:3000.

Since multiple mitochondrial proteins are encoded by nuclear genome genes, are synthesized in a cytoplasm and only then transported in mitochondria, MTChD can be a mutation consequence as in the mitochondrial and nuclear genome, which increases a number of mitochondrial pathology and requires differential diagnosis of a modern level [10, 11].

In despite of profound research studies (OI Timchenko, 2011.; CJR Dunning, 2007; M. Lazarov, 2007), populational and ethnical composition restriction of examined families with oxidative phosphorylation pathology (OPH), hasn't been overcome as well as data absence about pathogenic meaning the majority of mutations and about geno- and phenotypic correlations level. These circumstances make fundamental and applied researches significant, which are addressed on understanding mitochondrial pathology in whole.

Mutation specificity determination for certain clinical manifestations, as well as an imagination extension about genetic surroundings influence on gene expression level will help to find out not only pathogenic development mechanisms of energy metabolism disorder, but also to develop adequate methods of prediction, treatment, rehabilitation and prevention of mitochondrial dysfunction.

Studying gene role of polymorphic variants in manifestation of common human disease distribution causes a great interest for the last years [12, 13]. Evidences of a correlation presence of mtDNA variability were found during mtDNA polymorphisms studying, only some works were studying mtDNA polymorphisms associations with neurological lesions. The search work that studied mitochondrial genome variability of Ukrainians has priority among others (working staff: V. Richard, Estonia; T. Shurr, USA, E. Grechanina, Yu. Grechanina, B. Gusar, Ukraine).

Authors supposed possibility of population and genetical background influence on phenotypic manifestations of diseases, that became theoretical basis for study conduction.

Study conception has been developed for

---

---

studying influence of mtDNA polymorphisms and polymorphic genes of folate cycle:

Influence of mtDNA polymorphism on mitochondrial dysfunction expression occurs in result of substitution of adaptive role for pathogenic role against the background changed methylation as a main modifier of genome and presence of triggers.

Aim: studying fundamental and applied problems of clinical and genetic variability of mitochondrial dysfunction related with complex interaction of population and genetic features of population, which are able to form predisposition for energy metabolism disorder against the background of changed epigenetic status.

There are following tasks according to the work aim:

1. To determine genetic epidemiology, population and genetic features of mtDNA polymorphisms and polymorphic gene variants of folate cycle enzymes in Ukraine population; To study epidemiology of mtDNA haplotypes in patients with MTChD and clinical and genetic features of patients with mitochondrial dysfunction. Next tasks – To determine the affection range of systems and organs associated with tRNA-leucine and tRN-lysine genes and to conduct analysis of clinical MTChD manifestations which are associated with «point» mutations of mtDNA. To study main clinical features of polymorphic gene variants carriers (C667T MTHFR and A66G MTHRR), a character of phenotypic features in patients-carries of polymorphic mtDNA and C667T MTHFR and A66G was next tasks. To develop a continuum of clinical features, an algorithm and genetic navigator for differential diagnostics of MTChD on basis of received data and to determine the effectiveness of a new fetus for differential diagnosis of MTChD was task according to the work aim.

**Materials and methods.** A comprehensive analysis of the following items was performed to achieve the goals and objectives of the thesis study:

– 5895 Registration Cards – database of genetic monitoring (by the rules of work) for ten years;

– 1938 Genetic records of families who have polymorphic gene variants of folate cycle found by selective;

– 200 Registration Cards, of neonates and the results of molecular genetic studies of mtDNA haplogroups;

– 200 Registration Card and the results of molecular genetic studies of polymorphic variants of genes of folate cycle enzymes.

Following patients were examined:

– 652 patients with various forms of hereditary diseases;

– 203 patients with clinically diagnosed MTHD;

– 142 people with no signs of MTHD.

2445 Molecular genetic studies of

polymorphisms and 49 point mutations were analyzed.

All examined patients were followed up (dispensary observation) by the thesis defender, who personally carries out the diagnostics, treatment and rehabilitation.

Systematic approach to the problem became the methodological basis of research and this is why, features of mitochondrial DNA polymorphisms as evolutionary formed adaptation factors and polymorphic gene variants of key enzymes of folate cycle were studied at the first stage of the research with help of molecular genetic testing.

Molecular genetic testing was carried out within the limits of two international projects: «Ethnogenomics of Eastern European people: the identification of mtDNA and Y-chromosome haplotypes in Ukrainian population and their analysis by mechanism of mitochondrial diseases expression of Slavs in populations of Eastern Europe», USA.

The detection of DNA point mutations in patients with clinically established by Yu.B. Grechanina diagnosis of MTChD was conducted on a basis of molecular genetics laboratory (Minsk, Belarus, laboratory chief, professor N.G. Danilenko) and molecular genetic laboratory of KhSMGC (laboratory chief V.A. Gusar).

Conducting molecular genetic testing author based on mtDNA haplogroups analysis of 57 patients with suspicion of MTChD and 86 persons without any signs of energy metabolism disorder and 200 neonates.

The second stage – clinical genetic, comprehensive biochemical, cytogenetic, molecular genetic, electronic microscopic (according to indications), morphofunctional (according to indications) testing of patients with clinically established diagnosis of MTChD (203 persons) composed the main group (MG1) including mtDNA polymorphisms carriers (MG2), 91 persons – polymorphic gene variants (C667T MTHFR, A66G MTHRR, mtDNA) carriers (MG3), 75 patients with clinically established MTChD (MG4) (31 with mitochondrial encephalopathy, 3 with MERRF syndrome, 1 with BIDMOAD syndrome, 9 with MELAS, 6 with Leigh syndrome, 12 with MNGIE, 7 with Kearns-Sayre syndrome, 2 with Menkes syndrome, 4 with Leber syndrome) and 142 persons without any signs of mitochondrial dysfunction and folate cycle deficit.

Table 1

**Qualitative composition of the studied groups of patients**

Patients	Groups – the number of patients, %				
	CG	MG1	MG2	MG3	MG4
Total number	142 (100%)	203 (100%)	37 (100%)	91 (100%)	75 (100%)
men	78 (54,93%)	113 (55,67%)	14 (37,84%)	39 (42,86%)	34(45,33%)
women	64 (45,07%)	90 (44,33%)	23 (62,16%)	52 (57,14%)	41 (54,67%)
at the age up to 11 years	61 (42,96%)	108 (53,20%)	17 (45,94%)	42 (46,15%)	42(56%)
at the age from 12 to 17 years	33 (23,24%)	52 (25,62%)	13 (35,14%)	15 (16,48%)	15(20%)
at the age from 18 to 35	39 (27,46%)	32 (15,76%)	7 (18,92%)	29 (31,87%)	15 (20%)
elder than 35 years	9 (6,34)	11 (5,42%)	0 (0%)	5 (5,5%)	3 (4%)

Molecular genetic testing of polymorphic gene variants C6677T MTHFR, A66G MTRR was carried out for 200 neonates from a population and 1938 patients with various hereditary diseases. Clinical material collection and pheno – and genotypic comparison were made by author in molecular genetic testing. Statistical analysis of received data was carried out by Y.B. Grechanina and A.E. Filatova on the basis of the agreement about scientific technical collaboration with Kharkiv National Polytechnic Institute.

The thesis was carried out at the department of medical genetics of KhNMU, in Ukrainian Institute of clinical genetics of KhNMU and Kharkiv Specialized Medical Genetical Centre on the basis of the agreement of about scientific technical collaboration between KhSMGC, medical genetics department of KhNMU, Novosibirsk Institute of cytology and genetics of Siberian department of RAN, Pennsylvania University (molecular antropogenetics laboratory, Philadelphia, USA).

Molecular genetic testing of blood samples of 200 neonates was carried out in collaboration with Texas University (dermatology and pediatrics departments – B. Brendon B. Holmes, Silvia Guks, Peter L.Rady, Reuben K. Matalon).

Life and disease anamnesis had priority character considering presence of triggers, mediators, progreduated disease course and hereditary character in each individual case.

All method variants of differential staining were used for studying chromosomes. «C» method was used for identifying some chromosome parts. Constitutive heterochromatin estimation was assessed as highly informative in establishment of epigenetic status disorder.

**Results and discussion.**

Studying some population genetic markers, which are characteristic for Ukrainian population and

studying mtDNA polymorphisms character was being carried out by molecular genetic testing. Estimation of haplotypes frequencies has shown expressed European component presence introduced by corresponding haplogroups (H, U, J, T, V, HV, pre-V, I, W, X, N) summary frequency of which is 95,6% with following distribution: H – 33,5%, U – 20,9%, J – 11,7%, T – 6,7%, V – 5,4%, HV – 3,7%, pre-V – 2,9%, I – 2,1%, W – 2,1, X – 2,5%, N – 1,2%, H, U, J, T (72,8%) haplogroups have the most prevalence. Mongoloid mix (A, B, C, D, Z haplogroups) with a frequency of 2,0% has been found in studying. It has been established 55 polymorphic positions with the most variable 16189 and 16204, polymorphisms have been defined in tRNA<sup>lys</sup> and tRNA<sup>leu</sup> of encoding region. Polymorphisms in tRNA gene were found in HVS1, which determine haplogroups 3705G/A (H), 3624 A/G (J), 3594 C/I (12e3), 3336 T/C (N1a), 3552 T/A (C) it has been noted the presence of a wide range of polymorphisms, which characterize T haplogroup (1888 G/A, 8697 G/A, 8860 G, 11251 A/G, 11719 G/A, 11812 A/G, 14766 C/T, 14905 G/A, 15326 A/G, 15452 C/A, 15607 A/G, 15928 G/A) in patients with muscle hypotonior, which is taking its progreduated course. Found mutations in patients with HVS1 types of mtDNA, which determine haplogroups H and X, have allowed us to confirm genetic background influence as the one of additional mechanism of mutational process (V.A. Gusar).

Estimation of mtDNA haplotypes frequencies in 57 patients with clinically established diagnosis of mitochondrial pathology, 86 persons from control group and 200 persons from Ukrainian population (three generations) has showed Eurospecific haplogroups of mtDNA: H, pre-V, V, J, T, U, I, W, X, N, the frequencies of which are 24,0%, 2,0%, 12,0%, 16,0%, 18,0%, 2,0%, 2,0% and 8,0%, respectively, total frequency is 84,0%. Asian haplogroups C, A, were found with the frequency of 4,0%. High frequency of T (16,0%), U (14,0%), X (8,0%), N

(10,0%) haplogroups in comparison with controls was likely conditioned by instable positions 16189 and 16294, contained in the main nucleotide motives of these haplogroups.

Interactions between genome and epigenome have increased a number of disease causes, which can be hereditary occur de novo, be genetic or epigenetic. Their appearance depends on an environment, which can change epigenome (also DNA methylation) and it influences on a frequency of neurological, psychic oncologic diseases.

Molecular genetic testing has been carried

out and genetic epidemiology of polymorphic gene variants of folate cycle enzymes in 200 neonates (from population) has been studied because the one from biological markers of changed epigenetic status is DNA methylation connected with folate cycle function. Genotypes and allele frequencies of MTHFR C677T, A1298C, G1793A, Mtrr A66G, RFC-1 G80A were studied. Received data show that there is lower prevalence in individuals, who are homozygotes for gene C677T MTHFR (7,04%) and higher in Ukraine who are heterozygotes (40.70%) in comparison with other populations (table 2) (fig.1)

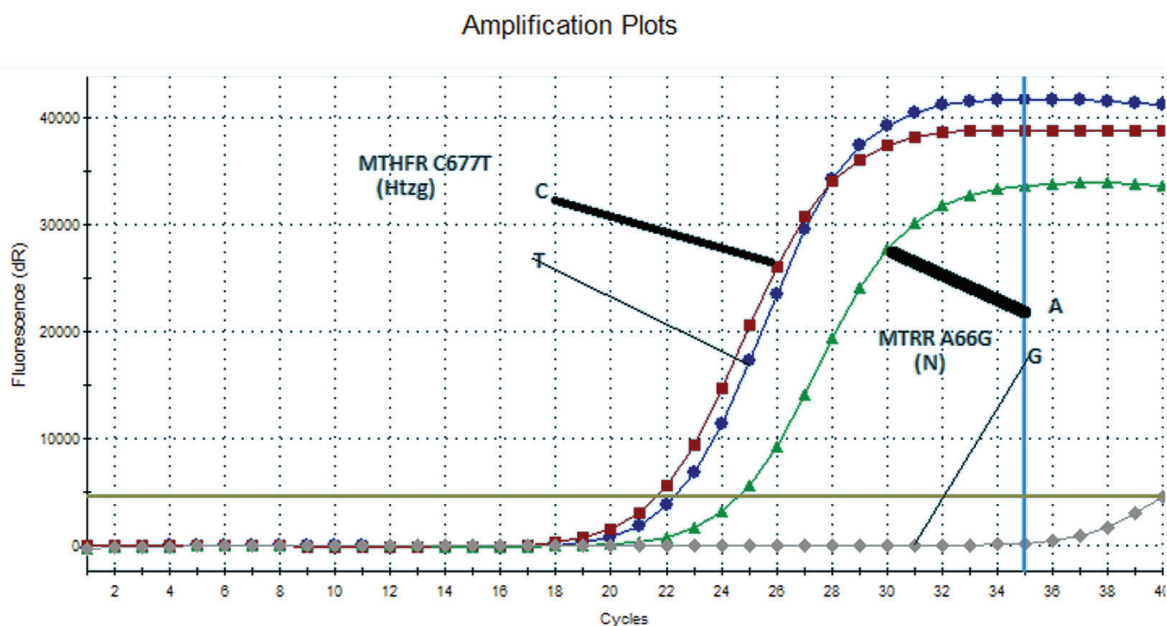


Fig. 1. Reasearch results of polymorphic variants of genes MRHFR C677T (Htzg) and MTRR A66G by PCR method in real time

Gomozygote prevalence is the highest in Ukraine (35,5%) as well as allele frequency of MTRR A66G (57,0%). Gomozygosity for RFC-1 G80A (CG) allele was 38,42% and was higher in controls, allele frequency of RFC-1 G80A for Ukrainian population was lower (38,4%).

Studying heterozygotes distribution by receive new data. It is known that interactions between two and more genes, which encode proteins, taken participation in homocysteine metabolism, form negative effects of polymorphism.

Structure distribution of heterozygotes, two, three, four and five alleles of MTHFR, MTRR, RFC-1 were registrated and all possible combinations of complex heterozygosity were found. Double homozygosity for MTHFR C677T/MTRR A66G and MTHFR C677T/RFC-1 G80A (GG) had the frequency of 3,5 and 2,1%, respectively. Double homozygosity for MTRR A66G and RFC-1 G80A (GG) heterozygosity for polymorphic sites MTHFR C6771/A298C had the frequency of 12,1%.

Table 2

**The distribution of genotypes and allelic frequencies of MTHFR (C677T, A1298C, G1793A) MTRR (A66G) RFC-1 (G80A) genes**

<b>Polymorphisms</b>	<b>Ukrainians</b>	<b>Ashkenazi Jews *</b>	<b>Afro-american s*</b>	<b>Europeans*</b>	<b>Spaniards *</b>
MTHFR C677T	N=199	n=155	N=97	N=159	n=96
Homozygotes	7.04% (n = 14)	26.5% (n = 41)	1.0% (n=1)	11.3%(n = 18)	26.0% (n = 25)
Heterozygotes	40.70% (n = 81)	42.6% (n = 66)	21.6% (n = 21)	42.8% (n = 68)	43.8% (n = 42)
Norm	52.26% (n = 104)	31.0%(n = 48)	77.3% (n = 75)	45.9% (n = 73)	30.2% (n = 29)
Allelic frequency	27.39% (109/398)	47.7% (148/310)	11.9%(n= 23/194)	32.7% (104/318)	47.9% (92/192)
MTHFR A1298C	N = 200	n=149	N = 97	N=159	n = 96
Homozygotes	8.50% (n= 17)	8.1% (n=12)	2.1% (n = 2)	8.8%(n=14)	4.2% (n = 4)
Heterozygotes	39.50% (n = 79)	38.3% (n = 57)	26.8% (n = 26)	47.2% (n = 75)	27.1% (n = 26)
Norm	52.00% (n = 104)	53.7% (n= 80)	71.1% (n = 69)	44.0% (n = 70)	68.8% (n = 66)
Allelic frequency	28.25% (113/400)	27.2% (81/298)	15.5% (30/194)	32.4% (103/318)	17.7% (34/192)
MTHFR G1793A	N=195	n=117	N=97	N=159	n=95
Homozygotes	0.00% (n = 0)	0.0% (n = 0)	0.0% (n = 0)	0.6% (n=1)	0.0% (n = 0)
Heterozygotes	4.62% (n = 9)	2.6% (n = 3)	6.2% (n = 6)	12.6% (n = 20)	11.6%(n=11)
Norm	95.38% (n = 186)	97.4% (n = 114)	93.8% (n = 91)	86.8% (n = 138)	88.4% (n = 84)
Частота алелля	2.31% (9/390)	1.3% (3/234)	3.1% (6/194)	6.9% (22/318)	5.8% (11/190)
MTRR A66G	N = 200	n=123	N = 97	N=159	n = 96
Homozygotes	35.50% (n = 71)	19.5% (n = 24)	10.3% (n= 10)	29.6% (n = 47)	7.3% (n = 7)
Heterozygotes	43.00% (n = 86)	47.2% (n = 58)	47.4% (n = 46)	49.7% (n = 79)	42.7% (n = 41)
Norm	21.50% (n = 43)	33.3% (n = 41)	42.3% (n = 41)	20.8% (n = 33)	50.0% (n = 48)
Allelic frequency	57.00% (228/400)	43.1% (106/246)	34.0% (66/194)	54.4% (173/318)	28.6% (55/192)
RFC-1 G80A	N=190	n=122	N=101	N=131	n=108
Homozygotes	38.42% (n = 73)	28.7% (n = 35)	20.8% (n = 21)	29.0% (n = 38)	26.0% (n = 30)
Heterozygotes	43.16% (n = 82)	45.9% (n = 56)	45.5% (n = 46)	47.3% (n = 62)	43.8% (n = 54)
Norm	18.42% (n = 35)	25.4% (n = 31)	33.7% (n = 34)	23.7% (n = 31)	30.2% (n = 24)
Allelic frequency	40.00% (152/380)	48.4% (118/244)	56.4% (114/202)	47.3% (124/262)	47.2% (102/216)

In this analysis: 7,0% of Ukrainian population (n=199) were homozygous for MTHFR, 35,5% were homozygous for RFC-1 G80A. Moreover, 3,5% (n=199) and 3,2% (n=190) had population had homozygosity for MTHFR C677T/MTRR A66G and MTHFR A1298C/RFC-1, respectively, 12,6 (23/190) – heterozygosity for polymorphic sites of MTHFR C677T/A298C.

Received data analysis has highlighted that Ukrainian population has a high deficit of folate and, accordingly, a high risk of nervous system affection, that is confirmed by genetic monitoring results (fig. 1).



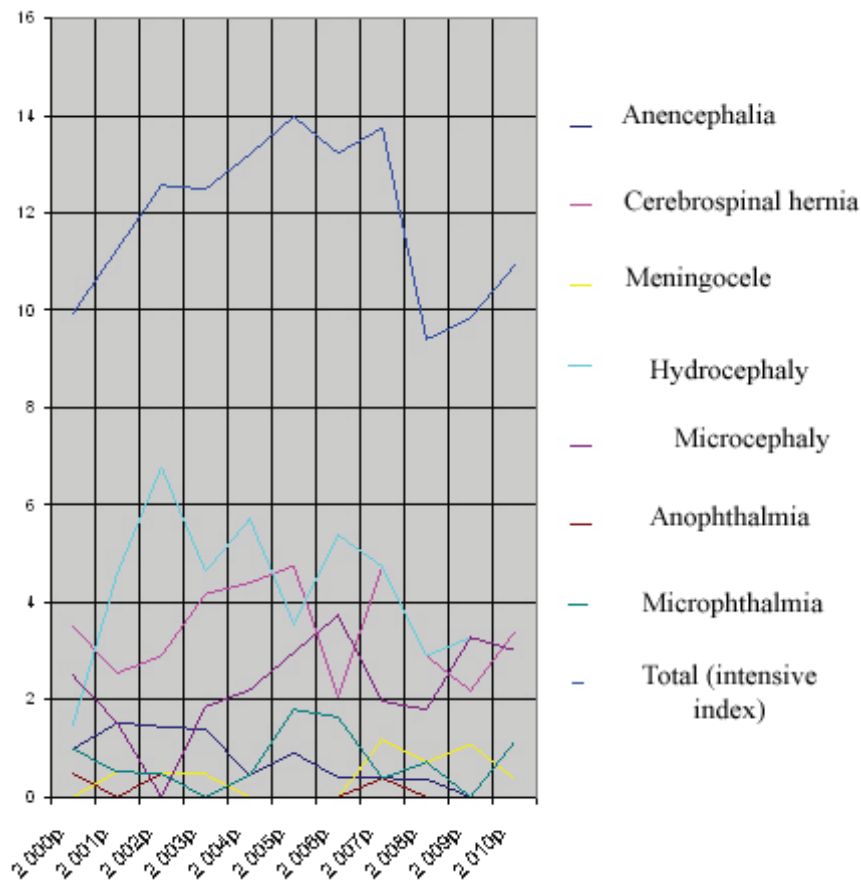


Fig. 2. Comparative characteristics of the CDF of nervous system according to genetic monitoring (2000-2010) (intensive index)

The key enzyme of folate cycle is MTHFR enzyme. The frequency of its heterozygous allele of 677CT is 43,3% (in studied population) that means enzyme activity decrease (by 35%) in great number of examined patients. Gomozygous allele of 677CT is in 8,7%, that decreases enzyme activity (by 70%) in a great number of people. Considering that this enzyme is closely connected with energy metabolism because takes part in CoQ synthesis, it is evident that there is the influence of this polymorphism on mitochondrial function in norm and in pathology.

It is reasonable to agree with the supposition, that allele carriers of 677T has selective advantage in natural selection because activity decrease of MTHFR during a hunger was a reason of remethylation decrease of homocysteine, and therefore tetrahydrofolate is available for DNA and RNA synthesis. Therefore our ancestors could survive and transfer this feature to following generations.

MTRR A66G polymorphism, prevalent in other populations, has appeared with a high allele frequency among examined patients. There were 35,5 % of homozygote carriers of A66G in Ukrainian population (in Europe – 29.6%). There were 37.0 % of homozygote carriers and allele frequency was 58.0 % in patients. It means that such population quantity has a risk of nervous system affection independently

of folic acid intake because we discuss the disorder of cobalamin biogenesis.

It has been shown that polymorphisms combination of C677T MTHFR and A66G MTRR can manifest in other way than total effects each of them. Their common influence was a cause of the amplification or the compensation of phenotypic manifestation, therefore, influenced on survival of people with various compound genotypes. More likely that it depends on other components of genome function – on triggers and mediators.

Received data confirm influence possibility of polymorphic gene variants MTHFR on clinical manifestation character of MTChD: level change of S-adenosylmethionine involves energy metabolism in pathologic process.

Phenotypic estimation of data of 203 patients (MG1 (the main group1) and CG9 control group)) has been made/ Homogeneity analysis of sex and age groups was carried out using X2 criterion: group division on sex and age corresponded to evidence requirements on the basis of these criteria. Figure 4 shows the difference of phenotypic features in MG1 and CG; lesions of nervous, urinary system and muscles were prevalent in examined patients with MTChD (Kramer's coefficients: 037.040 and 0.48, respectively).

Phenotype analysis of patients with MTChD has shown the most significant changes in muscle and nervous system. Mitochondrial pathology is characterized by muscular system affection, because this system is the most highly energotrophny organ. Various degree of muscular hypotonia was being clinically shown and in some cases – distonia was followed by muscular weakness, increased fatigability, diffuse muscular pain, muscular atrophy and hypotrophy. Such changes in MG1 were found in 103(60.10%) patients, while in CG – only 17 (11.97%) persons had mild muscular affection. Found changes

has been confirmed by statistical calculation and show the difference of phenotypic signs between the main and control groups (table 3, 4). These clinical signs were morphologically characterized by symptoms of «red torn fibers» in polarographic research, in such cases there was enzymatic activity decrease, in electronic microscopy – structural and quantitative changes of mitochondria. Profound studying central nervous system condition in examined patients has allowed us to find a wide range of changes, which shows, on the one hand, certain specificity of mitochondrial dysfunction.

Table 3

Contingency table by the sign of  $x_0^{1,5}$  «muscles»

Signs of gradation		Group		□	$\chi^2_{кр}$	V
		MG1	CG			
$x_0^{1,5}$	0	81 (39,9%)	125 (88,03%)	206 (127,93%)	81,80	0,49
	1	103 (50,74%)	17 (11,97%)	120 (62,71%)		
	2	19 (9,36%)	0 (0%)	19 (9,36%)		
□		203 (100%)	142 (100%)	345 (200%)		

Table 4

Contingency table by the sign of  $x_0^{2,1}$  «nervous system»

Signs of gradation		Group		□	$\chi^2_{кр}$	V
		MG1	CG			
$x_0^{2,1}$	0	68 (33,5%)	92 (64,79%)	160 (98,29%)	49,62	0,38
	1	33 (16,26%)	30 (21,13%)	63 (37,39%)		
	2	102 (50,24%)	20 (14,08%)	122 (64,32%)		
□		203 (100%)	142 (100%)	345 (200%)		

Generalized disorder of digestion dysfunction is neurogastrointestinal encephalopathy. Intestinal symptoms initiations occurred in childhood or postpubertal period and manifested by chronic diarrhea, stasis, sickness, vomiting, that was a cause of exhaustion and cachexia. J. Shoffner's data (2010) show the loss of longitudinal layer of muscular tunic, formations and disruptions of diverticule, intestinal sclerodermia and pseudoimpenetrability. Electrophysiological researches have revealed lesions of CNS and inner organs together with cardiac penetrability, lactate-acidosis.

Extraintestinal symptoms were characteristic for MTChD. J.Finsterer (2010) confirms this fact. Groth delay, leucodystrophy and ataxia in brain,

ophthalmoplegia, ptosis, neurosensory deafness were noted. Craniocerebral nerves were involved in this process (dysarthria, dysphonia, prosopoplegia) cardiac blockage was often developed. Patients had exercise intolerance weakness and «torn red fibers» found in muscular biopsy. MNGIE syndrome course (12 patients) has changed from progreduated to longterm remission in treatment process.

Skeletal changes were phenotypic signs of MTChD. A chest was changed in 109 patients (MG, 53,69%) and 46 persons (CG, 32,39%). These data show that muscular frame weakness and secondary connective tissue dysplasia (figures 3a, b, c) become causes of sceletal disorders (tables 5, 6).

Contingency table by the sign of «chest»

Gradation of signs		Group		□	$\chi^2_{kp}$	V
		MG1	CG			
$x_0^{1,17}$	0	94 (46,31%)	96 (67,61%)	190 (113,92%)	15,44	0,212
	1	70 (34,48%)	31 (21,83%)	101 (56,31%)		
	2	39 (19,21%)	15 (10,56%)	54 (29,77%)		
□		203 (100%)	142 (100%)	345 (200%)		

Table 6

Contingency table by the sign of  $x_0^{1,18}$  «spine»

Gradation of signs		Group		□	$\chi^2_{kp}$	V
		MG1	CG			
$x_0^{1,18}$	0	78 (38,42%)	82 (57,75%)	160 (96,17%)	12,75	0,192
	1	20 (9,85%)	8 (5,63%)	28 (15,48%)		
	2	105 (51,73%)	52 (36,62%)	157 (88,35%)		
□		203 (100%)	142 (100%)	345 (200%)		

Differential molecular genetic diagnostics of MTChD, encoded by «point» mutations, was carried out in 49 patients from 75 patients of the main group (MG1), which have certain nosologic forms. Mutation search (T8993G) in Leigh and NARP syndromes was in ATP6, TRNL1 snp, SURF1, ND5snp 12706 gene (n=9).SURF1 (1 patient) and ND5snp 12706 (1

patient) mutation were found. In de novo mutation (12706) such polymorphisms were also found: a new mutation (tRNA-leucine) 3624 A/G, AC substitution (tRNA-leucine) syn; polymorphisms (tRNA-lysine) 8860 G, AC substitution (tRNA-lysine) trh/ala, a new mutation (tRNA-lysine) 9018 T/C, AC substitution (tRNA-leucine) syn (1 patient).

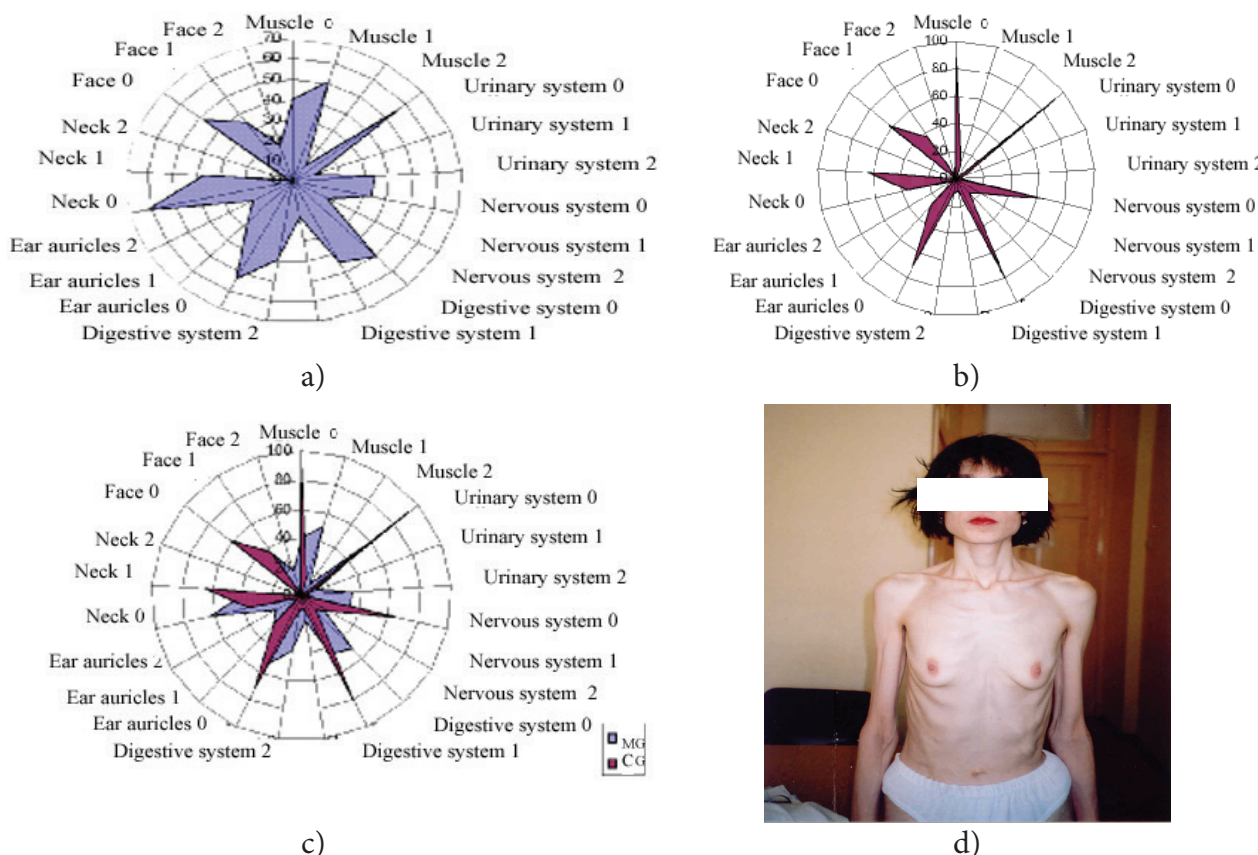


Fig. 3. (a) – The diagram of MG; (b) The diagram of CG; (c) the diagrams of the distribution of phenotypic traits (muscle, urinary system, nervous system, digestive system, ear auricles, neck, face) of the compared groups of MG and CG; (c) the diagrams of MG and CG; (d) – MNGIE syndrome (Mitochondrial neurogastrointestinal encephalopathy)

Mutation search (A32434) was being carried out in MELAS syndrome in tRNA<sup>Leu</sup> gene (n=27). Mutations were not found, but polymorphisms were found. Large fragment deletion of mtDNA (n=6) was found in 3 patients with Kearns-Sayre syndrome. There are no mutations in other cases, that is explained by often search of mutations.

Carried out within the limits of common project with collaborators from USA and Russia study of expression of mitochondrial diseases in Slavonic population of Eastern Ukraine has shown search difficulty of mitochondrial mutations, besides, various nuclear gene defects and mtDNA mutations occur in the majority of mitochondrial syndromes. Only collaborative study has allowed to find, confirm and describe mtDNA mutation (for the first time),

which was in ND5 gene (“hot point”). Such mutation was being considered as unique mutation because its association with phenotype of Leigh syndrome hadn’t been confirmed. Hypothesis confirmation was found by a. Morgan Hudless J.A., Hanna M.G., (2009):

Leigh syndrome appearance is followed by additional mechanisms, which define phenotypic expression, such as the genetic background and ecological factor.

This hypothesis has been confirmed by differential diagnostics of MTChD: the patient with suspicion of mitochondrial encephalopathy has heteroplasmic mutation (12706C ND5), which is associated with clinical manifestation of fatal Leigh syndrome with unusual brain lesion and is a new one, developed in mother’s (fig. 6).



Fig. 4. Morphological phenomenon of «ring-shaped fibers» (ring or ringed fibers). Because the staining reveals the activity of mitochondrial enzymes, the ring shows the anomalous distribution of mitochondria in the fiber (cytochrome 40s ed). The yellow arrow points to the center of the fiber, which is different from the color around the fiber (black arrows).

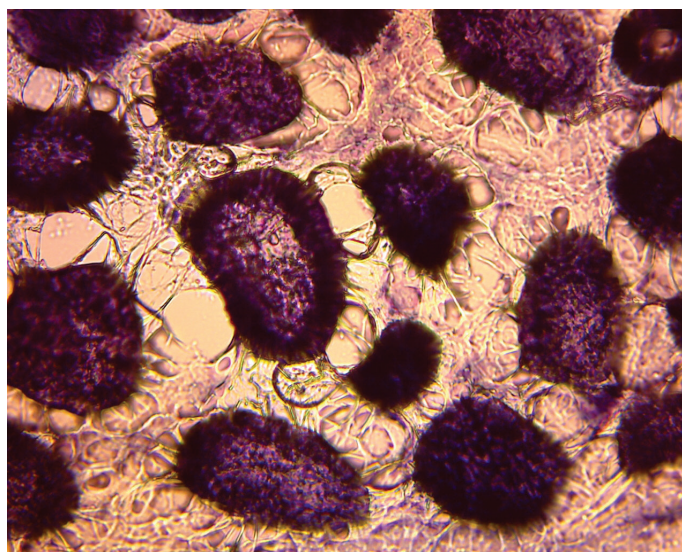


Fig. 5. NAD40 – ring-shaped fiber in the center. The phenomenon of fiber type disproportion – the tiny fibers are colored more intensively than the big fibers (they have the high activity or the number of mitochondria and enzyme)

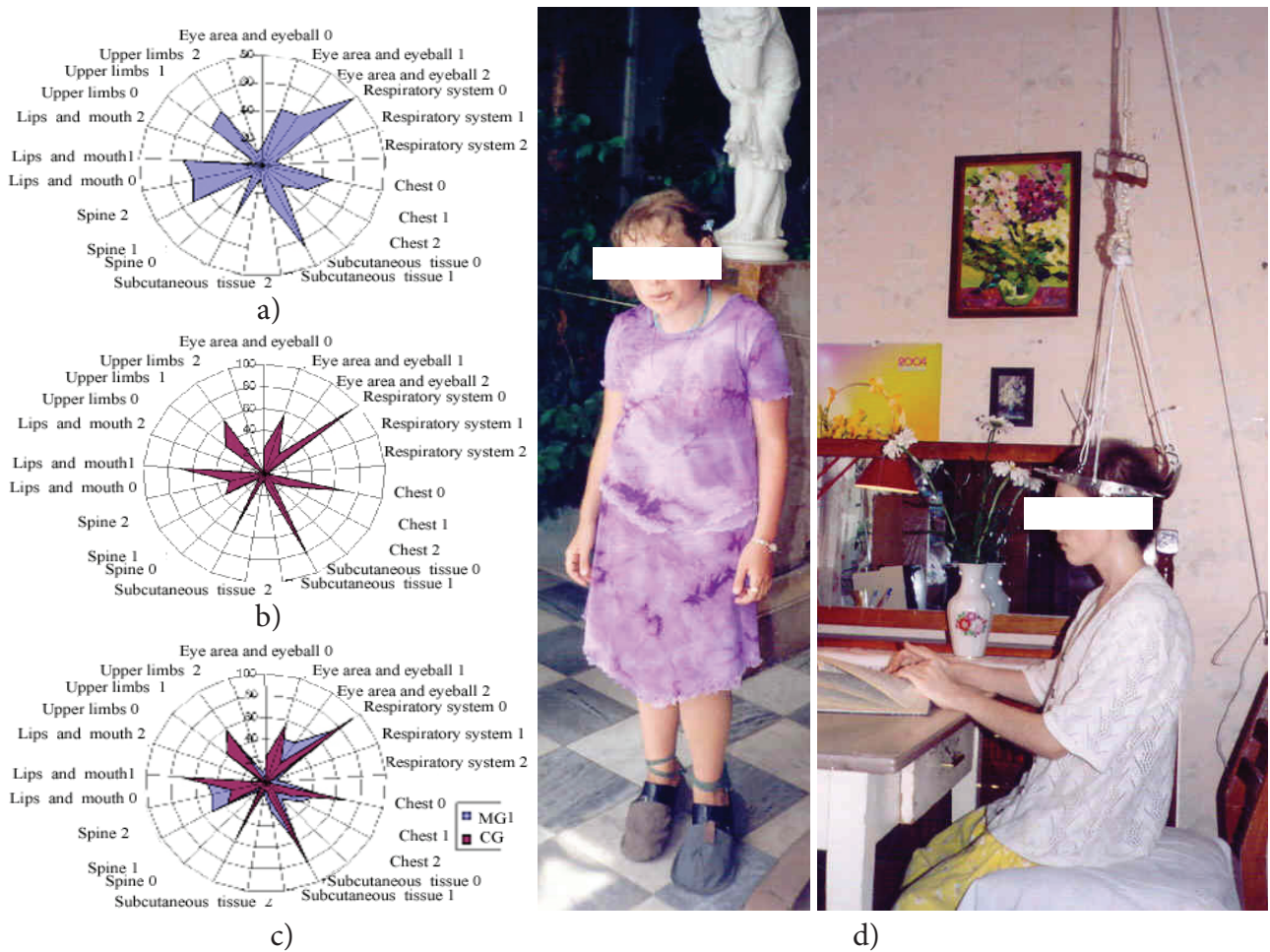


Fig. 6 .The diagrams of the distribution of phenotypic traits (eye area and the eyeball, respiratory system, upper and lower jaws, chest, subcutaneous tissue, the spine, lips and mouth) of the compared groups of MG and CG: (a) the diagram of MG1; (b) the diagram of CG; (c) the diagrams of MG and CG; (d) the patient with geno-and phenotypic syntropy: Turner's Syndrome, a mosaic form 46HH / 45H. Mucopolysaccharidosis. MTHD. homocystinuria (type III) mtDNA polymorphism 8697G / A, 8860 G in the tRNA-lysine, and the C677T MTNFR Htrzgt A66 MTRR Hmzgt

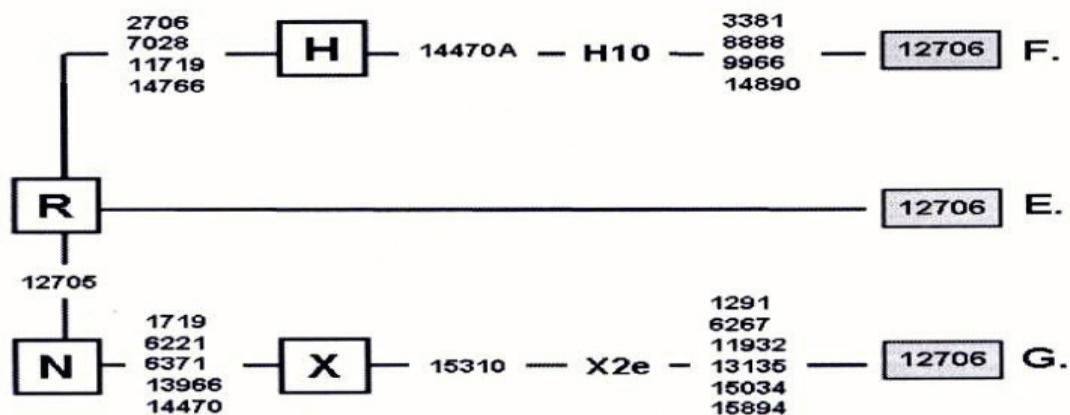


Fig. 7. Phylogenetic relationships among the different haplotypes with the mutation 12706S. To build the network we used only sequences that encode. MtDNA haplotypes of F., G., E. probands are presented with 12706S mutation. The main phyletic areas of these haplotypes of mtDNA are indicated in the squares.

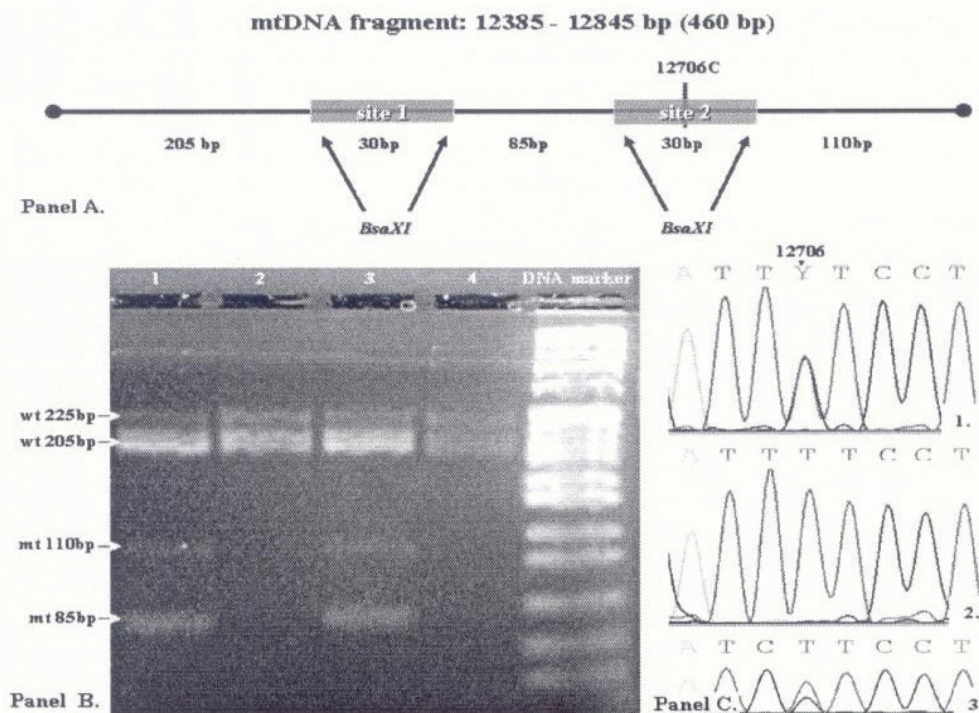


Fig. 8. Schematic overview of the method of PCR-RFLP (PCR-RFLP) to identify mutation 12706S.

Panel A. The diagram of amplified fragment of mtDNA, indicating restriction site *BsaXI*.

The second restriction site *BsaXI* is missing in the wild type of mtDNA, which leads to the distribution into 3 fragments of 225, 205, and 30 bps. In the presence of mutation 12706S, *BsaXI* restriction site is divided into five fragments of 205, 110, 85, 30 and 30 bps. Panel B. The image of amplified fragment of ND5 gene with *BsaXI* restriction in the gel. Probands G. and F. (lines 1 and 3), as well as in the negative control (line 4), has only the bands of wild-type with the absence of mutation.

Panel C. Electropherogram of the proband G.(1), his mother (2) and the proband F. (3), with numbered lines, which corresponds to the panel B.

Carried out phylogenetic analysis of positive cases with mutation 12706C has shown that all mutations have different haplogroups of mtDNA (these mutations occur by independent mutational events). This mutation aspect (12706C) has confirmed its pathological meaning in syndrome development.

Parametric studies were carried out to confirm pheno – and genotypic correlation in such case, their conduction was in collaboration with several world molecular genetic laboratories. mtDNA was being analyzed by southern-blotting hybridization with consequent restriction for mutation exclusion (mtDNA reconstructions, which often occur). mtDNA – encoding region was amplified with specific kit of primers. Samples of proband and mother were analyzed by sequencer ABJ 3100 Gene Analyzers in Sequencing Centre of Genetics Department of Pennsylvania University. Mutation presence (12706C) was confirmed by using mutationally specific restriction, besides screening for ND5 mutation was carried out among 187 healthy people and patients with MTChD, which suited by haplogroup chosen participants from other biomedical projects (S.I. Gadanov, T.Shurr).

Sequencing of mtDNA-encoding region of proband G. has revealed 24 main nucleotide substitutions J. mtDNA had polymorphic sites which are characteristic for haplotypes X 2c. This mtDNA line origins from South Siberian and often occurs in European population (Lebon S. 2003). Mutationally specific analysis (PCR-REJP) of 127063 mutation and sequencing of mitochondrial genome have show that this mutation is in heteroplasmic condition (mutative threshold is 50%) in proband, but is absent in blood of proband's mother. These data supported a hypothesis of the most possible appearance of de novo 12706C mutation in fetus cells of proband's mother.

Studying mtDNA polymorphisms has shown a possibility of their pathogenetic action, influence on signs manifestation of hereditary pathology. Clinical features of patients with signs of energy metabolism disorder were studies in order to define a probability of such influence on MTChD manifestation.

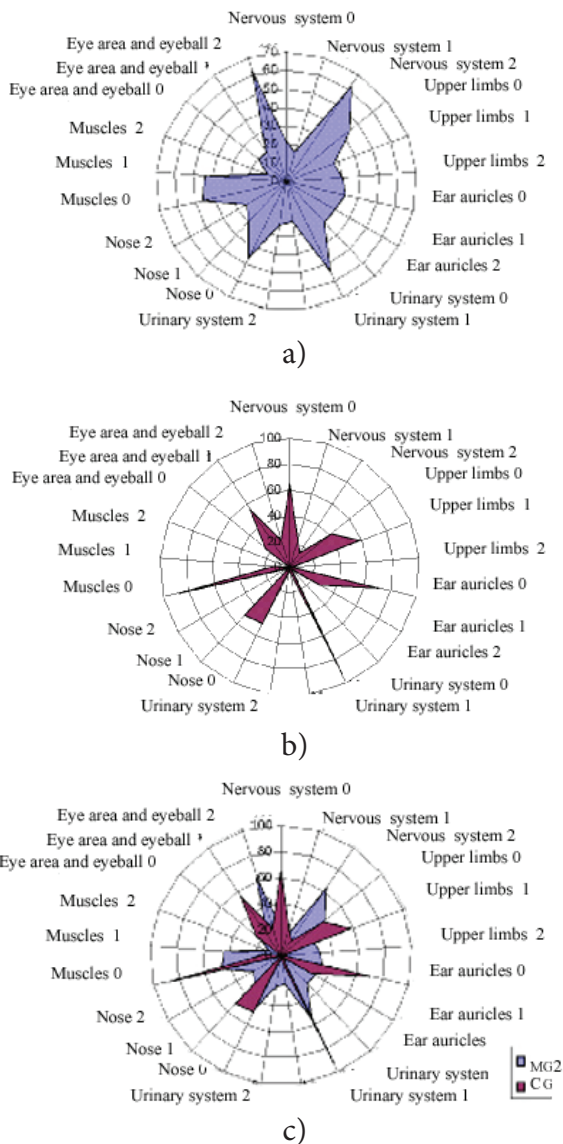


Fig. 9. The diagrams of the distribution of phenotypic traits (nervous system, upper limbs, ear auricles, urinary tract, nose muscle, eye area and the eyeball) of the compared groups MG2 and CG: (a) the diagram MG2; (b) the diagram of CG; (c) the diagrams of MG2 and CG

**There is a hypothesis:** polymorphic gene variants of mtDNA, which changed their functions during an evolutionary process and became negative mutations (from adaptive mutations) and formed predisposition genes, influence on clinical manifestation character and MTChD manifestation. 37 patients with mtDNA polymorphism were examined. Studying association of certain affected systems and organs with certain PmtDNA has allowed to confirm prevalent involvement of energetotropy organs in their phenotype: nervous system (78.38% of patients), skeletal (89.16%), digestive system (40.54%), cardiovascular system (35.14%), muscle (43.24%).

Significant genetic heterogeneity of lesions is noted and it requires studying polymorphisms kit for differential diagnostics on the assumption of population characteristics of mtDNA haplogroups.

Polymorphism were found in encephalopathies (tRNA – leucine) – 3197 T/C and 3336 T/C; a new mutation (tRNA – lysine) 3624A/G, 3594 C/T, 3705 G/A, 3505 A/G, 3552 T/A; substitution (tRNA – lysine) 8697 G/A, 8806G, 8856 G/A, 8251 G/a, 8701 A/g and a new mutation (tRNA-lysine) 8164 C/T, 8610 T/C, 8614 T/C; AA substitution (tRNA-lysine) syn, thr/ala, pro/leu, ala/thr.

Disorders of muscle system, gastrointestinal tract, skeletal lesions, ophthalmoplegia, cardiopathy, neurosensory deafness have almost such degree of genetic heterogeneity.

These data analysis confirms from the one hand prevalent lesions of nervous system in MTChD, which is associated with PmtDNA and other energetotropy organs and systems and from the other hand – the presence of genetic heterogeneity phenomenon (the same clinical profile in different PmtDNA), which negative mutations have. Received data confirm PmtDNA significance in clinical signs formation of PmtDNA, influence presence of neutral nucleotide substitutions on clinical signs character of MTChD.

Received data estimation gives an opportunity to suppose that found clinical signs in patients with MTChD associated with PmtDNA correspond signs range (according to all lesions); which energy metabolism disorder has: these signs are clinically polymorphic, multisystemic, and genetically heterogenic that is due to etiopathogenetic mechanisms and form polyorganic continuum of MTChD (encephalopathy, deafness, peripheral neuropathy, myopathy, scoliosis, diabetes, cardiopathy, hepatomegaly, joint dysplasia, respiratory deficiency) (fig.10).

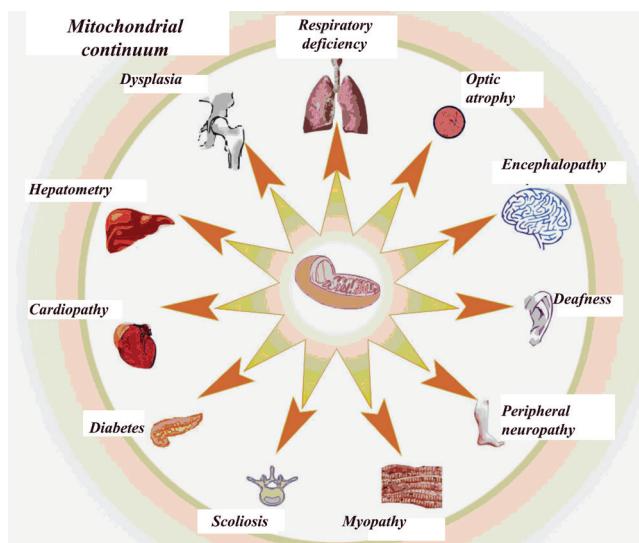


Fig.10. Mitochondrial continuum

---

---

It is possible to suppose that mitochondrial balance disorder is formed as a result of pathological mutation influence in mitochondrial or nuclear DNA or in nuclear and mitochondrial, therefore, phenotype character depends on nosological form and involvement degree of organs and systems depends not only on mutation type but also on mtDNA percent (this mtDNA has mutations) (heteroplasmy phenomenon).

These data support the mentioned hypothesis: the information about folate cycle role, its key enzyme – MTHFR and methionine as a universal donor of methyl groups in gene expression regulation was a reason of frequency estimation of polymorphic variants C677T MTHFR/ A66G MTRR. 581(89.1%) from 652 examined patients with different hereditary diseases had polymorphic variants. The main clinical signs of homozygous compounds were presented by cardiovascular pathology, psychomotor development delay, reproductive dysfunction of a family. Heterozygous compound of these polymorphisms had more range of clinical manifestations that is an evidence of multiorgan affection.

Patients with genotype 677T MTHFR/ 66AG MTRR had significant affections of veins of various localization.

The main clinical signs of 677T MTHFR Hmzgt and 66AG Htzgt carriers were characterized by ectomorphy, dark hair, «sharp» facial features, scoliosis, marble skin, normal intellect, the presence of creative abilities. A registration of such signs as additional to present hereditary disease has suggested syntropy presence «disease conglomerates», meganosology, diseases family, a combination of two and more pathological conditions of diseases, syndromes in one patient. Syntropy is not accidentally naturally specific phenomenon, which has evolutionally genetic basis (V.P. Puzurev, 2010, E.Y. Grechanina, R.V. Bogaturova, 2011).

Patient follow-up with different types of hereditary pathology and, first of all, with energy metabolism disorder has shown signs presence of different hereditary disorders in 91 probands.

Profound studying disease history, life anamnesis, genealogy, phenotypic estimation of these patients has allowed us to find several constitutes of clinical manifestations formation of disease. There was the presence of factors in each case and these factors had a character of triggers, mediators and mutation, which were associated with the main disease. Such distribution of exo – and endogenic factors in disease formation has lead to the mechanism search of pathological conditions development and studying gene polymorphism problem as an additional source of gene mutations, in order to define a role methylation disturbance in disease manifestation.

Unique functions of methionine are that it takes participation in transmethylation reaction; is a donor of methyl groups, takes participation

in synthesis of biologically active substrates and nucleonic acids; is an methyl acceptor for 5-methylenehydrofolate-homocysteine-methyltransferase (methioninesynthase). Methionine is an irreplaceable amino acid, a component of aminoacyl tRNA biosynthase, metabolism component of glycine, serine, treonine, histidine, methionine, selenoamino acid, tyrosine.

It has been proved that re-methylation disorder (methionine formation from homocysteine), that is a result of MTHFR enzymes deficit, causes pathological condition development such as: atherosclerosis, atherotrombosis closure defects of neural tube, infarcts, nondisjunction of chromosomes in the oogenesis. Studying geno – and phenotypic associations was conducted on the basis of data analysis of selective screening of predisposition genes C677T MTHFR / A66G MTRR in 1938 patients with different forms of hereditary pathology.

Clinical significant differences were defined in carriers of genotype variants MTHFR and MTRR. There was the highest a frequency of lesions of central nervous and cardiovascular system, which were followed by genotypes Htzg / Hmzgt and Htzg / Htzg C677T MTHFR and N / Htzg A66G MTRR. The fact of that the influence of these genotypes on pathology formation of leading body systems as pathogenic genes confirm aforesaid data.

Nosological units range has been formed by common disease as well as by monogenic and chromosomal diseases. Clinical signs of deficit of folate cycle enzymes in patients with common diseases were found in 572 (29.5%), and NBO in 492 (25, 4%), and cardiovascular disease in 252 (13.0%), and monogenic disease – in 159 (8.2%), chromosomal syndromes in 102 (5.2%), CTD 95 (4.9%), re-methylation disorder in 86 (4.4%), MTChD – in 76 (3.9% ), thromboembolism – in 32 (1.6%), epilepsy – in 24 (1.2%), varicose disease in 21 patients (1.08%), hereditary gastrointestinal diseases in 10 (0.5%), organic aciduria in 9 (0.4%), Duchenne muscular dystrophy – in 6 (0.3%), autism, in 2 (0.1%). Clinical manifestations were compared in patients, who are carriers of both types of polymorphisms (mitochondrial and nuclear DNA) (MG3).

Patients from MG2 and MG3 had skin lesion. Pigmentic spots, angiotelectasia, basal cell nevi were frequent and more expressed against the background of changed methylation. Mesodermal dysplasias in folate cycle deficit were independent in spite of syntropy. Presented data (fig.11, table 12) show that the changes of different organs are not similar and have certain independence, adding their features to MTChD phenotype.

Received data highlight a high frequency of skeletal disorders in the both groups. The majority of patients from both groups has eye changes, that corresponds to clinical signs.

Neck and spine changes occurred in MG3 more



often. More than one third of patient from the both groups had cardiovascular disorders with a slight preponderance in MG2. 54,05% (MG2) and 31,87% (MG3) had muscle lesion, that is possibly related to an adaptive role of combined polymorphisms. Patients of the both groups had urinary system lesion with a slight preponderance in MG3 (tables 8.9).

Received data coincide with A.V. Smolyannikova's characteristics – the founder of syntropy meaning: «The second disease has its own pathogenetic features, has a character of independent nosologic unit, which requires special therapeutic actions?».

Flayling T.M. et al, 2007, Casas S.P., 2004, V.P.

Puzurev, 2010, E.Y. Grechanina, R.V. Bogatureva, 2011, confirmed this opinion.

### Practical recommendations

Received data have allowed us to make clinical scheme of patient and algorithm of differential diagnostics of MTChD.

Classical and modern research methods in differential diagnostics of MTChD have increased its efficiency up to 93% and have allowed us to develop diagnostic algorithm. And pathogenetic correction development has become important in the absence of etiological treatment in the world (this correction was used in a daily practice).

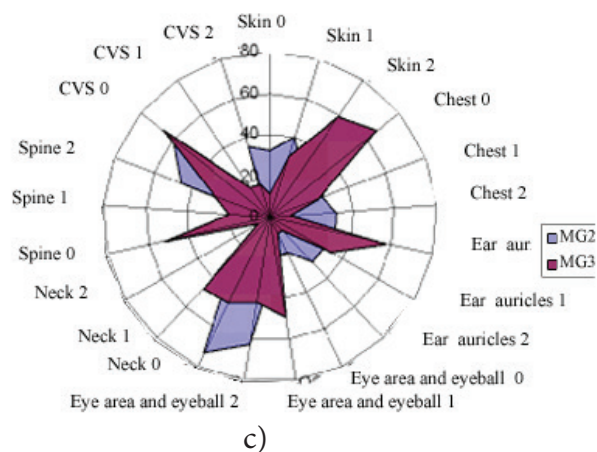
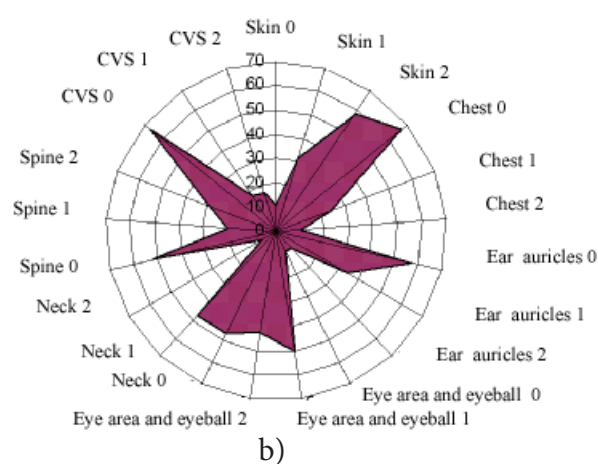
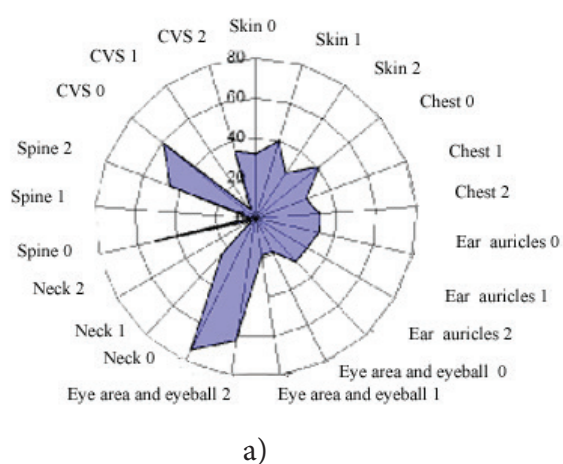
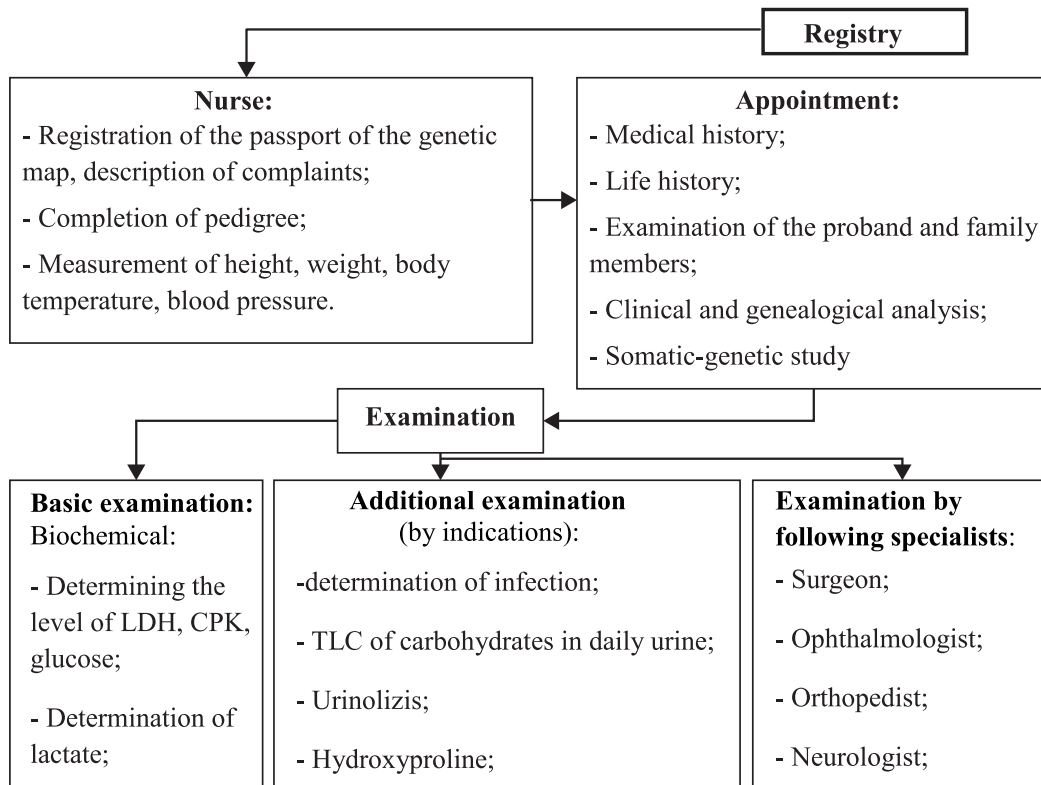


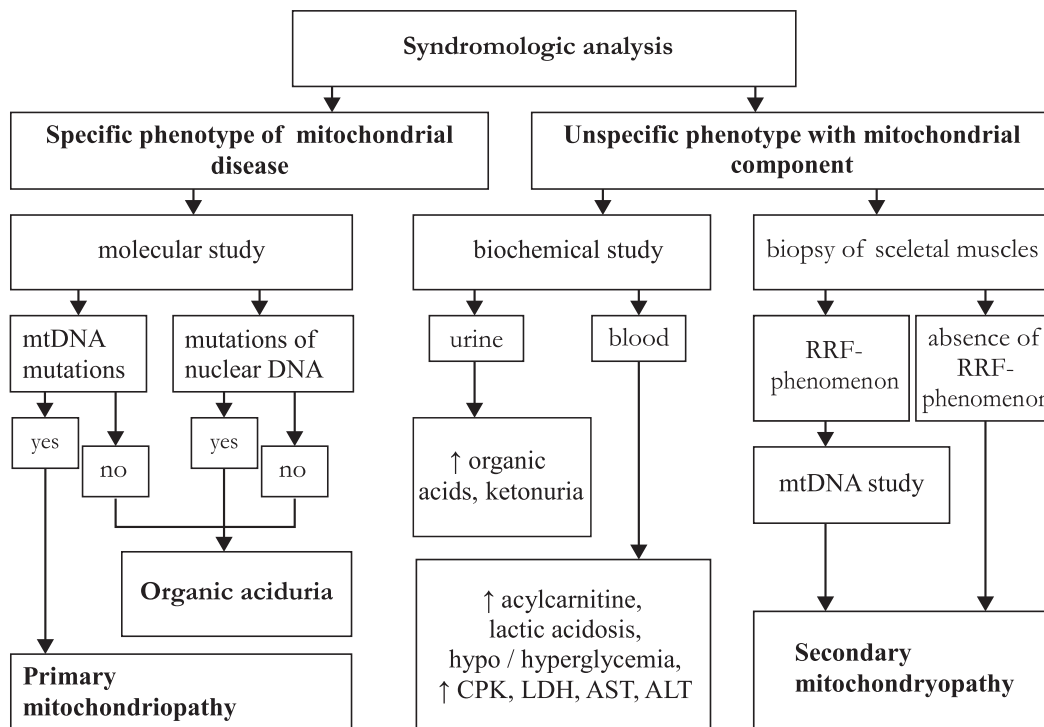
Fig. 11. The diagrams of the distribution of phenotypic features (skin, chest, ears, eye area and eye apple, neck, spine, CVS) of the compared groups MG2 and MG3: a) the diagram of MG2; (b)thr diagram of MG3;(c) the diagrams of MG2 and MG3;(d) thepatient with hamartosis and MTHD

**CLINICAL SCHEME OF THE PATIENT  
with mitochondrial dysfunction**

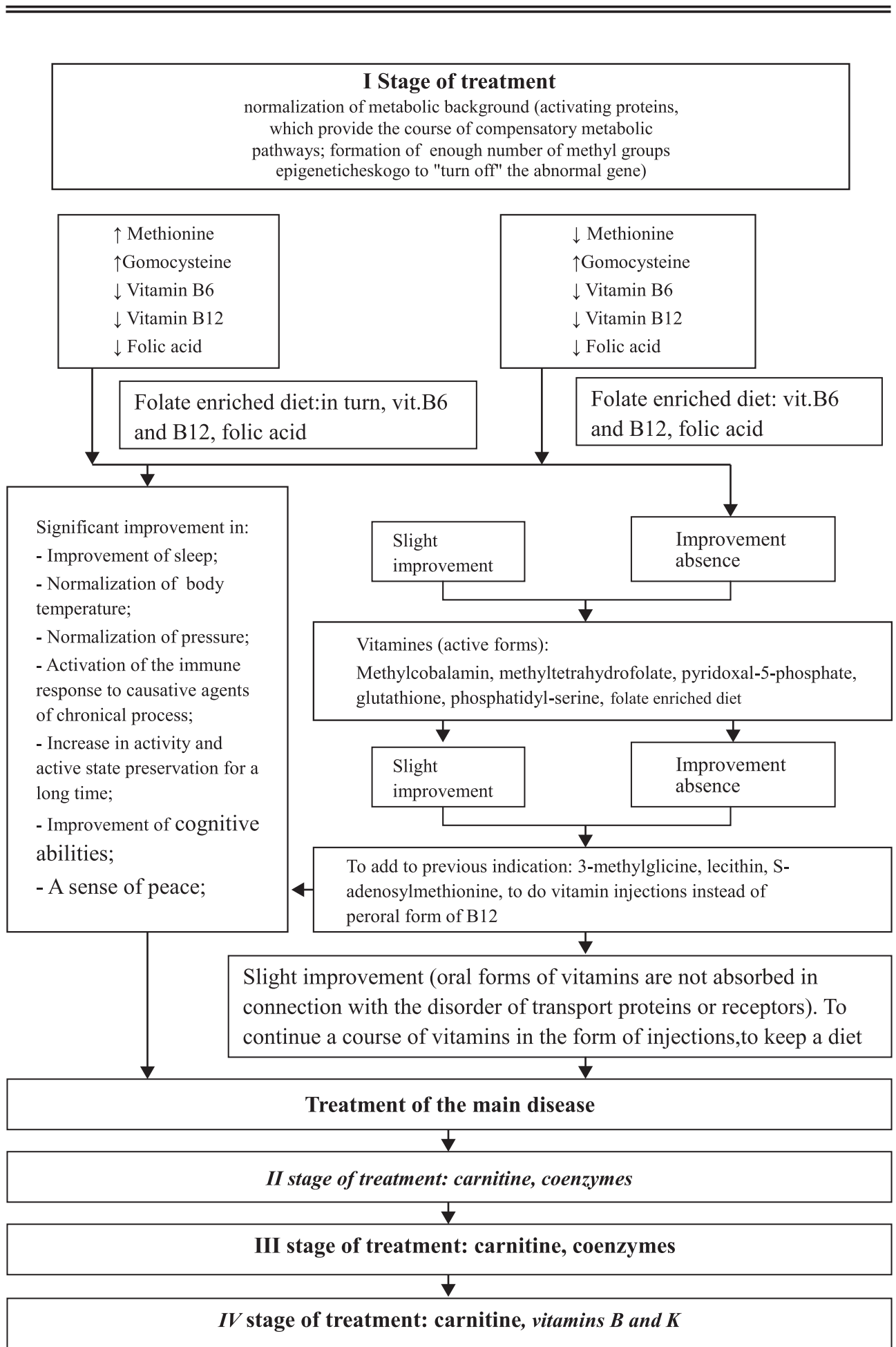


All therapeutic methods and drugs are appointed taking into account individual sensitivity of the patient to the corresponding drugs.

**MTChD diagnostics algorithm**



Received data evidence that the determination of population characteristics of mtDNA polymorphisms, analysis of individual genomes of mtDNA in probands with a high risk of MTChD and epigenetic status estimation, which (this status) is connected with folate cycle functions, are a valid approach for geno – and phenotypic corrections determination and differential diagnostics of mitochondrial disorders. And the phenomenon of genotypic as well as phenotypic syntropy is characteristic of mitochondrial disorders.



## Conclusions

Original comprehensive approach has been developed for differential diagnostics of mitochondrial dysfunctions, which includes: the estimation of some population genetic features of populations, the determination of genetic epidemiology of mtDNA polymorphisms and polymorphic gene variants of folate cycle features of «point» mutations carriers and polymorphisms. And this approach gives an opportunity to confirm developed concept in polymorphisms influence on clinical manifestation of MTChD.

Characteristics of the main haplogroups of mtDNA have been composed. The estimation of haplotypes frequencies has shown eurospective haplogroups presence: H (33,5%), V (5,4%), J (11,7%), T (6,7%), U (20,9%), Y (2,1%), W (2,1%), X (2,5%), N (1,2%), total prevalence of HUJT is 72,8%. Eurospective component was 95,6%, mongoloid – 2%.

Genetic epidemiology of haplotypes in patients with clinically established diagnosis of MTChD was characterized by presence of a smaller specific weight of eurospective haplogroups (84%) – H pre-V, V, J, T, U, I, X, N, W, their frequencies were 24%, 2,0%, 2,0%, 12,0%, 16,0%, 18,0%, 2,0%, 2,0% and 8,0%. Found Asian haplogroups C and A had the frequency of 4%. Higher frequency of haplogroups T, U, X, possibly, is due to an instability of positions 16189 and 16294, which has direct relation to genetic background formation.

Clinical genetic features of mtDNA polymorphisms carriers were characterized by multiorgan course, progreduated influence, clinical polymorphisms, genetic heterogeneity and prevalent involvement of energotropy organs and systems – nervous (62,16% of patients), muscle (42,24%), ophthalmological (62,16%), cardiovascular (35,14%), skeletal (38,0%), digestive (40,54). 75 patients (36,5%) had clinical signs of classical mitochondrial MERRF, MELAS, NARP, Leigh, Kearns-Sayre, Leber syndromes. 92 patients (45,31%) had syntropy phenomenon in which «disease conglomerate» had its specificity.

There is higher multiorgan affection in mtDNA tRNA polymorphisms – lysine: 8697G / A; 8860G; 8701G / A; 8856G / A; 8860 (CRS) 8251G / A; 8472C / T; 8448T / C; 8994G / A; 8337T / C; 8794C / T; 8584G / A; 8701 / G and in amino acid substitution of tRNA – lysine (Syn, thr / ala, pro / leu, met / val, met / thr, his / tyr, ala / thr), encephalopathies were more often associated with tRNA – lysine polymorphism and the new mutations (tRNA – leucine) (3624 A / G; 3594C / T; 3705G / A; 3505 / G; 3552T / A). Muscle, digestive, ophthalmological, cardiovascular, endocrine systems affection was more often associated with tRNA lysine polymorphism. These data confirm clinical significance of mtDNA polymorphisms as negative mutations in formation of clinical signs of MTChD.

Clinical genetic, molecular genetic, mathematical, statistical analysis of examination results of patients with MTChD, associated with

mtDNA «point» mutation and certain syndromes has revealed a severe affection of CNS (central nervous system) (82,67% of patients), of urinary system (76,0%), of digestive (84,0%), of nervous (88,0%), of subcutaneous tissue (53,33%), of spine (52,0%), of face (hypomimia) (64,0%), that is an evidence of diagnosis truth and involvement possibility in MTChD pathogenesis not only specific for mutational syndrome, but also for genetic surroundings in MTChD pathogenesis: mutations F124L and E145G ND5, which have changed functionally important sites involved in protons transfer, have led to the change of proton channel and have greatly influenced on phenotype of Leigh syndrome and, more likely, have become a cause of mutations in mother's fetal cells.

The main clinical signs of polymorphic gene variants C677T MTHFR and A66G MTRR have been defined, the real and virtual phenotypes, which differ depending on polymorphisms character reflecting different actions of mutation, have been made. Phenotype of C677T MTHFR carriers was characterized by dolichostenomelia, skeletal anomalies, high intellect, thrombophilia risk in 87,5 % of patients, while polymorphism A66G MTRR in 85,3% of patients had endocrinopathy features – hyperstenichnost prevalence with a short neck, prevalent skin pigmentation, psychic disorders.

Phenotypic features distribution in patients – carriers of mtDNA polymorphisms and polymorphic gene variants of folate cycle has estimated a high Kramer's coefficient in skin affection, its frequency was 88,01%, while among patients – carriers of only mtDNA polymorphisms – 67,57%. The both groups had muscle affection (99,55%), that is an evidence of nosologic independence preservation and simultaneous doubling of clinical manifestation in syntropy.

Developed continuum of clinical signs of MTChD, clinical course of patient with MTChD, diagnostics algorithm of MTChD and a scheme of comprehensive treatment, have allowed to increase diagnostics efficiency up to 93% and to receive an stable remission in a great number of patients with MTChD.

Carried out study has shown the influence of mtDNA polymorphisms on MTChD expression, which is a result of adaptive role substitution on pathogenic against the background of changed methylation as the main genome modifier in result of folate cycle function disorder and certain triggers presence, that shows the way of early diagnostics and an adequate correction of MTChD.

Studying populational characteristics of mtDNA polymorphisms, analysis of individual mtDNA genomes, epigenetic status of folate cycle is a valid approach for differential diagnostics of MTChD.

Grechanina E.Y.

---

---

## REFERENCES:

1. Wallace D. C. A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a dawn for evolutionary medicine /D.C.Wallace //Annu. Rev. Genet. – 2005. – Vol.39. – P.359–407.
2. Abnormal growth in mitochondrial disease /S.Wolny, R.McFarland, P.Chinnery, T.Cheetham //Acta Paediatrica. – 2009. – Vol.98, №3. – P.553–554
3. Гречанина Е.Я. Сравнительная характеристика частот аллелей С677Т МТНFR, А66G MTRR генов системы фолатного цикла и ВПР ЦНС / Е.Я. Гречанина, В.А. Гусар, Ю.Б. Гречанина //Ультразвукова перинатальна діагностика. – 2009. – №27/28. – С.4
4. Клініка та генетика спадкових захворювань, що супроводжуються шлунково-кишковими та загальними абдомінальними симптомами: монографія /О.Я. Гречанина, Р.В. Богатирьова, О.М. Біловол, О.В. Бугайова, А.А. Булавина, О.В. Васильєва, Ю.Б. Гречанина, В.А. Гусар, А.О. Глухова, О.П. Здибська, Т.А. Майборода, Л.В. Молодан, І.В. Новікова, Л.С. Озерова. – Тернопіль: ТДМУ, 2008. – 216с.
5. Наследственные нарушения обмена серосодержащих аминокислот /Е.Я. Гречанина, Р. Маталон, Ю.Б. Гречанина [и др.] //Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2008. – Т.53, №6. – С.57–65.
6. Изучение митохондриальных заболеваний в Украине: случай мутации ND5 de novo, значение патогенетических механизмов генных дефектов мтДНК ND5 /С.И. Жаданов, Е.Я. Гречанина, Ю.Б. Гречанина [и др.] // Журнал АМН України. – 2006. – Т.2, №3. – С.443–456
7. Reisch A.S. Biochemical assays for mitochondrial activity: assays of TCA cycle enzymes and PDHC /A.S.Reisch, O.Elpeleg //Methods Cell. Biol. – 2007. – Vol.80. – P.199–222.
8. Митохондриальный синдром MELAS: клиническое разнообразие, генетическая причина и диагностика /Н.Г.Даниленко, И.В.Наумчик, Н.Б.Гусина [и др.] // Медицинская панорама. – 2008. – №9. – С.32–34
9. Белоусова Е.Д. Дифференциальный диагноз эпилепсии /Е.Д. Белоусова, А.Ю. Ермаков //Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2008. – Т.53, №3. – С.103.
10. Chinnery P.F. Mitochondrial otology /P.F.Chinnery, T.D.Griffiths //Mitochondrial Medicine /eds.: S.DiMauro, M.Hirano, E.A.Schon. – London: Informa Healthcare, 2006. – P. 161–177.
11. DiMauro S. Approaches to the treatment of mitochondrial diseases S. DiMauro, M.Hirano, E. A. Schon // Muscle Nerve. – 2006. – Vol. 34, № 3. – P. 265–283.
12. Neuroprotection by a mitochondria-targeted drug in a Parkinson's disease model /A. Ghosh, K. Chandran, S. V. Kalivendi [et al.] //Free Radic. Biol. Med. – 2010. – Vol.49, №11. – P.1674–1684.
13. Parker W.D. Complex I deficiency in Parkinson's disease frontal cortex /W.D. Parker, J.K.Parks, R.H.Swerdlow // Brain Res. – 2008. – Vol.1189. – P.215–218.

*Ю.Б. Гречанина*

### **ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ПОЛІМОРФІЗМІВ мтДНК І ВАРІАНТІВ ПОЛІМОРФНИХ ГЕНІВ С677Т МТНFR ТА А66G MTRR НА КЛІНІЧНІ ПРОЯВИ МІТОХОНДРІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ**

**Резюме.** Дослідження концепції уточнення діагнозу мітохондропатія засноване на оцінках популяційно-генетичних характеристик – частотних поліморфізмів мтДНК, поліморфних варіантів генів і ферментів фолатного циклу. Знайдено варіабельні положення з високою волатильністю і частотою мутацій, які впливають на виникнення спорадичних мутацій. Показано, що для населення України характерно такий розподіл генотипів та частот аллелей генів МТНFR (С677Т, А1298S, G1793А); MTRR (А66G); RFC-1 (G80А), який характеризується високою часткою мутантного аллеля гомозиготи МTRR (А66G) і 66G, що обумовлено високою частотою уражень центральної нервової системи. Характер клінічних ознак поліморфізму мтДНК-носіїв – поліорганність, проградіент, клінічний поліморфізм, генетична гетерогенність первинних затримок енерготропів. Встановлено окремі нозологічні форми мітохондропатій – синдроми Лі, Лебера, Кайрнса-Сейра, Синдром MERRF (міоклонічна епілепсія з рваними м'язовими волокнами), синдром MELAS (мітохондріальна енцефаломіопатія, лактатацидоз, інсультподібні епізоди), NARP (нейропатія, атаксія і пігментний ретиніт), підтверджені клініко – генетично, морфологічними, біохімічними, ферментативними, молекулярно-генетичними методами. Описано основні клінічні особливості носіїв поліморфних варіантів генів С677Т МТНFR і А66G MTRR. Ці асоціації мітохондропатії з інвалідністю повторно метілюють метіонін як можливий прояв

---

---

зміненого епігенетичного статусу. Виявлено явище сінтропії і доведено, що вплив на експресію мтДНК поліморфізмів мітохондропатій обумовлено заміною адаптивної ролі по відношенню до зміненого метилювання в якості основного модифікатора генома при порушенні фолатного циклу і наявності певних тригерів.

**Ключові слова:** мітохондріальна дисфункція; поліморфізми мтДНК; поліморфні варіанти генів фолатного циклу; реметилювання метіоніну.

*Ю.Б. Гречанина*

### **ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПОЛИМОРФИЗМОВ мтДНК И ВАРИАНТОВ ПОЛИМОРФНЫХ ГЕНОВ C677T MTHFR И A66G MTRR НА КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ**

**Резюме:** Концепция исследования уточняющего диагноза митохондропатия основана на оценках популяционно-генетических характеристик – частотных полиморфизмов мтДНК, полиморфных вариантов генов и ферментов фолатного цикла. Найдены переменные положения с высокой волатильностью и частотой мутаций, которые влияют на возникновение спорадических мутаций. Показано, что для населения Украины характерно такое распределение генотипов и частот аллелей генов MTHFR (C677T, A1298S, G1793A); MTRR (A66G); RFC-1 (G80A), который характеризуется высокой долей мутантного аллеля гомозиготы MTRR (A66G) и 66G, что обусловлено высокой частотой поражений центральной нервной системы. Характер клинических признаков полиморфизма мтДНК-носителей – полиорганность, прогредиент, клинический полиморфизм, генетическая гетерогенность первичных задержек энерготропов. Установлены отдельные нозологические формы митохондропатий – синдромы Ли, Лебера, Кайрнса-Сейра, Синдром MERRF (миоклоническая эпилепсия с рваными мышечными волокнами), синдром MELAS (митохондриальная энцефаломиопатия, лактатацидоз, инсультоподобные эпизоды), NARP (нейропатия, атаксия и пигментный ретинит), подтвержденные клинико-генетическими, морфологическими, биохимическими, ферментативными, молекулярно-генетическими методами. Описаны основные клинические особенности носителей полиморфных вариантов генов C677T MTHFR и A66G MTRR. Эти ассоциации митохондропатии с инвалидностью повторно метилируют метионин как возможное проявление измененного эпигенетического статуса. Обнаружено явление сінтропії і доказано, що вплив на експресію мтДНК поліморфізмів мітохондропатій обумовлено заміною адаптивної ролі по відношенню до зміненому метилюванню в якості основного модифікатора генома при порушенні фолатного циклу і наявності певних тригерів.

**Ключевые слова:** митохондриальная дисфункция; полиморфизмы мтДНК; полиморфные варианты генов фолатного цикла; реметилювание метионина.

Надійшло до редакції 19.10.2018р.

Підписано до друку 03.12.2018р.

*Е.Я. Гречанина, Ю.Б. Гречанина, И.А. Волобуева, О.Ю. Вернигор*  
 Украинский институт клинической генетики ХНМУ,  
 Межобластной специализированный медико-генетический центр —  
 центр редких (орфанных) заболеваний

**КРАНИОМЕТАФИЗАРНАЯ ДИСПЛАЗИЯ (ANKH-GEN C.1124-1126DEL  
 В СООТВЕТСВИИ С NCBI NM\_054027.4, ATG=+1) (P.SER375DEL,  
 NTZG) НА ФОНЕ ЛЕГКОЙ ГОМОЦИСТИНУРИИ (MTHFR 677 TT),  
 ПОЛИМОРФИЗМОВ MTR 2756 GG, MTRR 66AG, PAI – 675 (5G/4G),  
 AGT II 235 TT. ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ?**

**Резюме.** Генетическая гетерогенность и клинический полиморфизм наследственной патологии в настоящее время приобретает все большее значение в уточняющей диагностике, затрудняя ее эффективность. Успехи молекулярной генетики открыли путь к персонализированной характеристике генетически гетерогенных форм болезней. Среди многочисленных факторов, определяющих геномное здоровье человека, все большее значение приобретает эпигенетический статус. Его исследованию посвящены многочисленные работы отечественных и зарубежных авторов. Утверждение Медавара П. о том, что «генетика предполагает, а эпигенетика располагает» отражает истинное положение дел в уточняющей диагностике. Метилирование признано основным модификатором генома и это дало основание углубить интерес к фолатно-метиониновому циклу, который самым тесным образом связан с метилированием. D. Parachristodoulou et al. (2014) в монографии «Биохимия и молекулярная биология» лаконично охарактеризовал медицинский эффект дефицита фолатов (Medical effects of folate deficiencies), хорошо изученный в мире. В этом свете наше исследование направлено на изучение роли дефицита фолатов в клиническом проявлении моногенных болезней, вызванных «точковыми» мутациями.

В работе представлено наблюдение краниометафизарной дисплазии (КМД) в сочетании с мягкой гомоцистинурией и несколькими полиморфными генами, ассоциированными с дефицитом фолатов. Это уникальное по степени выраженности клинических проявлений тяжелой формы данного синдрома, наблюдение.

**Ключевые слова:** Краниометафизарная дисплазия; легкая гомоцистинурия; полиморфизмы; дефицит фолатов; феномен синтропии.

**Постановка проблемы и ее значение.** В процессе уточняющей диагностики наследственной патологии мы все чаще встречаемся с феноменом сочетания клинических проявлений генных («точковых») мутаций и эпимутаций. Поэтому такие понятия как эпигеном (совокупность всех эпигенетических маркеров, которые лежат в основе генной экспрессии), модификации (эпимутации или направленные адаптивные изменения), метилирование цитозинового островков, которое приводит к выключению генов, ацетилованию гистонов, входят в практику клинического генетика.

«Эпигенетика – наука о наследуемых свойствах организма, которые не связаны с изменением собственно нуклеотидной последовательности ДНК и могут быть не прямо, а опосредованно закодированы в геноме. Эпигенетическими механизмами являются: энзиматическое метилирование ДНК, гистоновый код (энзиматические модификации

гистонов – ацетилирование, метилирование, фосфорилирование, убиквитинирование) и замалчивание генов малыми РНК (miRNA, siRNA), все они связаны с изменением структурной и функциональной организации хроматина». Это утверждение Ванюшина Б.Ф. [1], одного из исследователей эпигенетики как науки, как нельзя более ярко отражает сущность изменившихся болезней человека и, в первую очередь, наследственных.

С позиции сегодняшних представлений метилирование ДНК контролирует все генетические процессы, его нарушение параллельно с изменениями других эпигенетических модификаторов не только приводит к развитию рака, диабета, астмы, тяжелых неврологических и психических расстройств, о чем свидетельствует мировой опыт, но и по нашему скромному опыту накладывает отпечаток на клинические проявления наследственной патологии, влияя на их генетическую

гетерогенность и клинический полиморфизм. Нельзя не согласиться с Н. У. Zoghbi и А. Beaudet, что «изучение взаимоотношений генотипа и фенотипа бросает вызов клиницистам и исследователям, поскольку некоторые наблюдения не так просто поддаются объяснению». Изучение случаев редких наследственных болезней приоткрывает роль эпигенома.

Установлено, что метилирование ДНК осуществляется сайт-специфическими ферментами – цитозиновыми ДНК – метилтрансферазой и приводит к возникновению в ней  $m^5C$  (остатков 5-метилцитозина), что сказывается на взаимодействии ДНК с разными белками. При этом метилирование играет двойную роль: или блокирует связывание ДНК с такими белками и тем самым препятствует транскрипции генов, или является обязательным условием для связывания белков, т.е. метилирование ДНК играет как позитивную, так и негативную роль в генной активности. Авторы приводят классификацию эпигенетических болезней, которая включает болезни геномного импринтинга (сестринские синдромы: Прадера – Вилли и Ангельмана; Беквита–Видемана, Сильвера–Рассела, псевдо-гипопаратирозидизм). В эту же группу болезней авторы относят нарушения, влияющие на структуру хроматина в *trans*-конфигурации (синдромы Рубинштейна-Тайби, Ретта, сцепленная с X-хромосомой, альфа-талассемия, сопровождающаяся умственной отсталостью; синдром иммунодефицита, нестабильности центромерного участка и лицевых аномалий; спондилоэпифизарная дисплазия Шимке; дефицит метилентетрагидрофолат редуктазы (MTHFR)) и расстройства, влияющие на структуру хроматина в *cis*-конфигурации ( $\alpha\delta\beta$  – и  $\delta\beta$ -талассемия, синдром ломкой X-хромосомы, плече–лопаточно-лицевая миопатия.). Отнесение дефицита метилентетрагидрофолат редуктазы в категорию эпигенетических болезней позволило нам подойти к оценке ассоциации полиморфизмов ключевого фермента фолатного цикла – MTHFR с многими моногенными заболеваниями, выявленными нами в процессе селективного скрининга больных, с подозрением на наследственную патологию. Представленное наблюдение является одним из 7691 исследований полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла, проведенных нами в 2008-2014 гг., касается редкого наследственного заболевания – краниометафизарной дисплазии.

Установлено, что важнейшими факторами, которые нарушают эпигенез, являются внешнесредовое воздействие – питание, инфекции, стресс, травмы, курение. А главной эпигенетической меткой и ключевой реакцией эпигенеза является, по свидетельству Allis С.Д. [2], метилирование. Поскольку метионин является универсальным донором метильных

групп, вовлеченность фолатно-метионинового цикла в патогенез многих наследственных заболеваний подтверждено многочисленными исследователями. Механизм такого влияния все еще остается неясным и требует дальнейшего изучения. По данным D. Papachristodoulou et al. [3] дефицит фолатов во время беременности ассоциирован с патологией ЦНС. Фолат является не только носителем групп формила и метилена. Он может содержать определенное число других одноуглеродных групп различной степени окисления. Когда  $N^5$ ,  $N^{10}$  – метилен  $FH_4$  преобразовывается в  $N^5$  – метил  $FH_4$ , единственным путем вернуть фолат в производные  $FH_4$  является транспортировка метильной группы в гомоцистеин и преобразование ее в метионин, для чего необходим коэнзим, полученный из витамина  $B_{12}$ . Эта реакция катализируется метионинсинтазой. Авторы подчеркивают, что дефицит  $B_{12}$  может вызвать функциональный дефицит фолата, фолат будет «захвачен» в метилированной форме и не сможет вернуться в пул  $FH_4$  (тетрагидрофолата) для повторного использования при других реакциях при синтезе нуклеотидов. Это всего лишь часть работы фолатного цикла при синтезе нуклеотидов, но даже это утверждение подчеркивает важность дефицита ферментов фолатного цикла в синтезе ДНК. Логичным, с нашей точки зрения, является дальнейший поиск механизмов вовлеченности фолатно-метионинового цикла в формирование генетически гетерогенных форм наследственной патологии.

Представлено наблюдение тяжелого случая краниометафизарной дисплазии, подтвержденной молекулярно-генетическим исследованием (мутация) (ANKH-Gen c.1124-1126del в соответствии с NCBI NM\_054027.4, ATG=+1) (p.Ser375del, Htzg) и протекавшего на фоне легкой гомоцистинурии (MTHFR 677 TT), полиморфизмов MTR 2756 GG, MTRR 66AG, PAI-675 (5G/4G), AGT II 235 TT. Тяжесть клинических проявлений, возможно, была так же обусловлена ранним внутриутробным действием триггеров (латентная инфекция беременной), наличием у обоих родителей полиморфизмов (аллелей риска), связанных с метилированием ДНК.

Клинические проявления краниометафизарной дисплазии манифестировали в пренатальном периоде онтогенеза, о чем свидетельствовали ранний гестоз, угроза прерывания беременности, осложненное течение родов. Нарушением биомеханизма родов вследствие тяжелой деформации головы привело к необходимости кесарева сечения.

Фенотип ребенка в раннем детском возрасте соответствовал классической форме краниометафизарной дисплазии, однако диагноз в послеродовом периоде установлен не был. В дальнейшем клиническая симптоматика



тяжелой формы краниометафизарной дисплазии развивалась быстро, присоединившаяся гидроцефалия потребовала хирургической коррекции. Обнаруженная аномалия Арнольда-Киари дала основание для предположения о влиянии на тяжесть клинических проявлений сопутствующих молекулярно-генетических событий.

Отсутствие мутации у матери дает основание предположить наличие новой мутации или феномен гонадного мозаицизма у отца.

**Цель исследования:** Оценить клинические проявления и некоторые генетические характеристики краниометафизарной дисплазии, ассоциированной с мягкой гомоцистинурией и некоторыми генами риска с позиции взаимодействия генетических и эпигенетических мутаций в манифестации заболевания.

**Материалы и методы:** С 2008 года по настоящее время проведен селективный скрининг полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла у 7691 пациента с подозрением на хромосомные, генные и мультифакториальные заболевания. Определены частоты различных генотипов полиморфизмов в популяции, что послужило основанием для сравнения частот. Данные были опубликованы ранее. Для уточняющей диагностики использован широкий спектр дополнительного исследования – клинико-генетический, синдромологический, биохимический, молекулярно-генетический.

**Результаты и обсуждение:** К.Д., 3 г. 11 мес. На момент консультации мама предъявляла жалобы на резкое беспокойство девочки во время сна, которое сопровождается гипертонусом мышц спины, задержку психомоторного и речевого развития, увеличившуюся со временем деформацию черепной и лицевой частей черепа, наличие опухолеподобного образования в левой теменной области.

Анамнез жизни: пробанд от I-й беременности, которая осложнилась угрозой прерывания в сроке 20-21 нед., протекала на фоне анемии, токсикоза в I-м триместре, рецидивирующего трахеобронхита. Роды в сроке гестации 40 недель, осложнились слабостью родовой деятельности, длительным (24 часа) безводным периодом, нарушением биомеханизма родов из-за резкой деформации головки. Проведено кесарево сечение. Вес при рождении 3760 г, рост 55 см.

Анамнез заболевания: ребенок уже при рождении обращал внимание необычным строением головы – гипертелоризм, широкая переносица, квадратная форма ушных раковин, куполообразный череп были резко выражены. Эти признаки вначале были расценены как индивидуальная особенность фенотипа. Однако вскоре было отмечено прогрессирующее проявление аномалий – переносица расширилась,

гипертелоризм нарастал, нос укорачивался, нарастала анемия, отмечена дисплазия тазобедренных суставов, присоединилась патология почек (инфекционная). Ребенок находился на лечении в неврологическом отделении, однако проводимая терапия установленного гипоксически-ишемического поражения ЦНС эффекта не дала, и заболевание продолжало прогрессировать. Появились частые срыгивания, беспокойное поведение, что, к сожалению, не было использовано как показание для обследования метаболизма. Голова увеличивалась в размерах и деформировалась, большой родничок закрылся уже в 4 мес. До года ребенок лечился в соответствии с установленным симптоматическим диагнозом – задержка психического, предречевого, стато-кинетического развития, синдром проксимальной гипотрофии. В 1 год 1 мес. у ребенка был диагностирован гипотиреоз, назначен L-тироксин, а через месяц выявлены МРТ-признаки поражения белого вещества мозга, внутренняя гидроцефалия, мальформация Арнольда-Киари I, частичная атрофия дисков зрительных нервов обоих глаз. Появление аномалии Арнольда-Киари должно было быть еще одним поводом для параллельной оценки фолатно-метионинового цикла как сопутствующего метаболического нарушения. В раннем неонатальном периоде установлено наличие признаков инфицирования мочевыделительных путей, дисплазия тазобедренных суставов.

Ребенку проводилась симптоматическая терапия цераксоном, когитумом, кальцием гопантенатом. К 2-м годам гидроцефалия прогрессировала, сопровождалась сильными головными болями, беспокойством, рвотой. Проведена вентрикулоперинеостомия справа. Проведенное шунтирование дало краткосрочный эффект и потребовало его повторного проведения.

Лечащим врачом высказано предположение о наличии у ребенка кранио-метафизарной дисплазии (Галаган В.А.). Родители обратились в клинику Шарите (Германия), где проведено клинико-генетическое обследование и подтверждена краниометафизарная дисплазия в необычно тяжелой форме, которая по фенотипу напоминает краниодиафизарную дисплазию. Обнаружена известная мутация c.1124\_1126del (в соответствии с NCBI NM\_054027.4, ATG=+1) (p.Ser375del в гетерозиготном состоянии (Nurnberg et al.2001 Nat. Genet). Высказано предположение, что вероятнее всего мутация p.Ser375del связана с более тяжелой формой краниометафизарной дисплазии.

В 2013 г. у девочки возникли тонико-клонические судороги. Выявлены пароксизмы острых высокоамплитудных потенциалов, свидетельствующих о судорожной готовности

головного мозга. К этому времени диагноз уже звучал следующим образом: краниометафизарная дисплазия, синдром Арнольда-Киари I, эпилепсия с парциальными и генерализованными тонико-клоническими приступами, состояние после шунтирования, синдром ликворных нарушений, задержка психомоторного развития. Была назначена антиконвульсантная терапия.

Семья направлена в Харьковский специализированный медико-генетический центр (ХСМГЦ) для лечения и реабилитации. При осмотре в ХСМГЦ мы сравнили ее фенотип с «матрицей» фенотипа из каталога Smith's [4] (табл. 1).

Таблица 1

**Сравнительные данные о клинических проявлениях признаков КМД**

№ п/п	Краниофациальные аномалии	Каталог Smith's	Пациентка Д.
1	Уплотнение свода черепа с плотным основанием черепа, лицевых костей и челюстей	+	+
2	Вариабельная пневматизация	+	+
3	Необычно толстый костный выступ над переносицей	+	+
4	Гипертелоризм	+	+
5	Относительно маленький нос	+	+
6	Вариабельный проптоз глаз	+	+
7	Компрессия отверстий черепных нервов	+	+
8	Головная боль	+	+
9	Узкие носовые ходы с ринитом	+	+
10	Конечности:		
10.1	Вариабельная степень метафизарное расширения с диафизарным склерозом	+	+
10.2	Наиболее очевидны в дистальной части бедер	+	+
10.3	Наружное отклонение голени	+	+
11	Мальформация Киари I	+	+
12	Умственная отсталость	+	+
13	Расширенная венозная сеть на лице	-	+
14	Расширенная венозная сеть верхней части туловища	-	+
15	Судороги	-	+
16	Тяжелые нарушения зрения	+/-	+
17	Двусторонняя тугоухость	+/-	+/-
18	Отсутствие мимики	-	+
19	Ярко-красные поверхности ладоней и стоп	-	+

Признаки болезни видны в неонатальном периоде и при AR и при АД формах. У взрослых с АД формой типичные черепно-лицевые проявления менее очевидны. Клинические проявления более мягкие и включают сдавление 7 и 8 черепно-мозговых нервов. Склероз швов может быть единственным следствием при аутосомно – рецессивной форме, черепно-лицевые нарушения развиваются прогрессивно. Основание черепа становится более склерозированным и свод черепа с постепенно нарастающим гиперостозом с костными разрастаниями вокруг орбит и носовых костей. В этих случаях наблюдаются тяжелые нарушения зрения и двусторонняя тугоухость. Прогнатизм становится более выраженным с возрастом. Развивается стволовая атаксия. Оба аутосомно–доминантные и аутосомно–рецессивные

типы заболевания были описаны, причем последний более тяжелые по степени проявления.

Со стороны нервной системы отмечены тяжелые нарушения: аномалия Арнольда – Киари, задержка стато-кинетического, психо-речевого развития.

Обращали на себя внимание отсутствие мимики, значительно расширенная просвечивающаяся через кожу поверхностная крупного калибра венозная сеть на голове, грудной клетке; ярко красные поверхности ладоней и стоп. Голова деформирована как в черепной, так и в лицевой части: куполообразно приподнятый череп. У ребенка гиперостозы в корне носа и нижней челюсти. Носовое дыхание затруднено, отсутствует возможность жевания и правильной речи.



Рис. 1а. Фенотип пацієнтки в різному візмі.



Рис. 1б. Резко знижено зрєння, отсутствує його фіксація, рот завжди приоткрит. Лицо: морфологічна довжина збільшена, виражена деформація нижньої щелепи з гіперостозами, різке обмеження її подвижності.

Кожа – широка сеть расширенных вен в области лба, шеи, грудной клетки, просвечивающихся через тонкую, эластичную кожу. Определяются локальные участки сухой кожи, яркие гиперемизированные ладони и подошвы, соответствующие микроангиопатии.

Туловище характеризуется астеничностью, снижением роста.

При аускультации легких – везикулярное дыхание, хрипов нет. Тоны сердца ритмичные, чистые. Живот мягкий, безболезненный. Двигательная активность у ребенка сохранена,

но ходит только за ручку. Развитие ребенка, несмотря на сложность оценки, представляется соответствующим возрасту.

В неврологическом статусе: пациентка труднодоступна контакту, тревожна, отмечаются спонтанные движения, сидит самостоятельно, может ходить при поддержке, произносит отдельные слова, плохо фиксирует взгляд, сходящееся косоглазие. Мышечный тонус снижен, сухожильные рефлексы вызываются.

УЗИ органов брюшной полости, почек: в 2г. 7 мес. печень не увеличена, контуры ровные,

четкие, эхогенность паренхимы незначительно равномерно повышена, умеренное уплотнение стенок внутривисцеральных желчных ходов и сосудов системы портальной вены. Желчный пузырь не увеличен, перегиб в области шейки. Поджелудочная железа визуализируется полностью, увеличена, структура однородна, эхогенность паренхимы незначительно повышена. Почки расположены типично, эхогенность паренхимы обычная, чашечно-лоханочная система незначительно уплотнена.

Заключение логопеда: ребенок практически недоступен контакту, инструкции не выполняет, не видит, реагирует на голос, капризничает, произносит 2 слова – «папа», «мама». Ребенок отстает в психическом развитии. Диагноз: Задержка развития речи.

ЭЭГ – доминирование тета – активности и низкочастотного альфа-ритма, явления дизаритмии и дезорганизации, специфическая эпилептическая активность.

ЭКГ – синусовая тахикардия. ЧСС (152-182 уд/мин). Отклонение электрической оси сердца вправо: (98°). Умеренные обменные изменения в миокарде.

Рентген черепа в двух проекциях: выраженные костные деформации лицевого и мозгового черепа; с выраженными полосатыми гиперостозами нижней челюсти с двух сторон.

УЗИ сердца: правые отделы сердца не увеличены. В полости левого желудочка определяется дополнительная хорда. При доплер-ЭХО кардиографии показатели кровотока в пределах нормы.

УЗИ тазобедренных суставов: костная крыша – несколько недостаточна, хрящевая крыша – прямоугольная; костный эркер – закругленный; головки бедер централизованы в вертлужных впадинах; ядро окостенения – намечается. Диагноз: задержка формирования тазобедренных суставов.

Офтальмологический статус: расходящееся косоглазие правого глаза. Веки птозированы. Конъюктива несколько раздражена. Роговица гладкая, глянцевая. Радужная оболочка соответствует возрасту. Диск зрительного нерва бледный. Полученные данные позволили считать, что у ребенка имеет место атрофия зрительного нерва, резко снижена острота зрения, подозрение на дисплазию и механическое сужение зрительного канала. Не получены доказательства нарушения проводимости зрительных путей. Нейрофизиологическая функция зрительного анализатора нестабильная с выраженной редукцией и признаками повреждения структур проводникового уровня, в динамике – без изменений.

Таблица 2

**Динамика ЯМРТ, КТ головного мозга**

№ п/п	Возраст	Описание ЯМРТ, КТ головного мозга
1	4 мес.	Субдуральные гидромы лобно-височных долей с обеих сторон
2	1 год 2 мес.	МРТ-признаки поражения белого вещества мозга, вероятно гипоксически-ишемического генеза в пренатальном периоде. Данные за внутреннюю гидроцефалию, мальформацию Арнольда-Киари I
3	1 год 10 мес.	КТ-признаки гидроцефалии, краниостеноза, гиперостоза костей черепа, нарастающей внутричерепной гидроцефалии, остаточные явления гипоксически-ишемического поражения мозга.
4	1 год 11 мес.	Краниостеноз, состояние после шунтирования
5	2 года 3 мес.	При КТ: почти полное отсутствие придаточных пазух носа и сосцевидного отростка. В правом боковом желудочке и в правой затылочной кости определяется катетер. Внутренняя гидроцефалия. Низкое расположение миндалин, мозжечка, признаки свежего кровоизлияния не выявлены. Фиброзная дисплазия. Краниосиностоз.
6	2 года 5 мес.	Краниостеноз. Вариант Арнольда-Киари I.
7	3 года 1 мес.	КТ-признаки краниостеноза, гиперостоза костей черепа, внутричерепной гипертензии

## МОНОГЕННІ ХВОРОБИ

В результате обследования в ХСМГЦ получены следующие данные (табл. 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9).

Таблица 3

### Биохимический профиль

№ п/п	Метаболиты	Результат	Референтные значения
1	Щелочная фосфатаза	4833↑ Ед/л	До 720
2	Общий холестерин	7,31↑ ммоль/л	2,95-5,25
3	АСТ	55,91↑ Ед/л	0-48
4	Триглицериды	1,45 ↑ ммоль/л	0,4-1,24
5	Креатинин	22,53↓мкм/л	27-62
6	ЛДГ	714,6 ↑Ед/л	До 395
7	Общий белок	83,53↑ г/л	60-78

Как видно из представленных данных биохимического профиля (табл.3) метаболические нарушения очевидны и, по-видимому, ассоциированы с недостаточностью ключевого фермента фолатного цикла метилентетрагидрофолат редуктазы и метионин синтазы.

Таблица 4

### Результаты дополнительных методов исследования

№ п/п	Показатель	Результат	Референтные значения
1	Гомоцистеин	7,51↑ ммоль/л	до 5
2	Фолиевая кислота	51,28 ммоль/л	52,55-119,59
3	Витамин В <sub>12</sub>	0,225 нмоль/л	0,20-0,40
4	Витамин В <sub>1</sub>	41,38 нмоль/л	40,0-80,0
5	Витамин В <sub>2</sub>	90,66↓ нмоль/л	100,0-150,0
6	Витамин В <sub>3</sub>	3,92↓ ммоль/л	4,70-8,34
7	Витамин В <sub>6</sub>	20 нмоль/л	14,6-72,8

Показатели уровня гомоцистеина (табл. 4) свидетельствуют в пользу легкой гомоцистинурии, а снижение уровней витамина В<sub>2</sub> и В<sub>3</sub>, скорее всего, не являются клинически значимыми.

Таблица 5

### ДНК-анализ генетической предрасположенности

№ п/п	Наименование гена	Аббревиатура	Генотип
1	Метилентетрагидрофолат-редуктаза	MTHFR C677T	TT
2	Метионин-синтезаредуктаза	MTRR A66G	AG
3	Метионин-синтеза	MTR A2756G	GG
4	Протромбин (коагуляционный фактор II)	F II – G20210A	GG
5	Фактор Ляйдена (фактор V)	F V – G1691A	GG
6	Ген VII – фактора свертывания крови ингибитора активатора плазминогена	PAI – 675(5G/4G)	5G/4G
7	Ангиотензиноген	AGT I – C521T AGT II – T704C	CC CC

## МОНОГЕННІ ХВОРОБИ

ДНКанализ генетической предрасположенности (табл. 5) свидетельствует в пользу недостаточности ключевого фермента фолатного цикла MTHFR, что соответствует мягкой гомоцистинурии.

Таблица 6

### Исследование органических кислот мочи

№ п/п	Показатель	Результат	Референтные значения
1	<b>Метаболиты цикла Кребса и состояния активности ферментов дыхательной цепи</b>		
1.1.	Citric	23.48 ↓	25.7 – 678.3 ммоль/моль KREA
2	<b>Метаболиты обмена серы: индикаторы активности витаминов B12 и фолиевой кислоты; недостаточности молибдена; индикаторы цистина, метионина, нарушения процессов метилирования</b>		
2.1	3-Hydroxybutyric (B <sub>12</sub> )	0.49 ↑	n.d. ммоль/моль KREA
2.2	5-Oxoproline (Cys)	26.91	30.02 – 74.57 Umol/mmol KREA
3.	<b>Кетоновые тела, метаболиты окисления жирных кислот</b>		
3.1	2-Hydroxybutyric	1.72 ↑	0 – 1.67 ммоль/моль KREA
4	<b>Метаболиты грибов и дрожжей</b>		
4.1	Проба на индикан	н.сл. ↑	отрицательная
5	<b>Метаболиты бактерий</b>		
5.1	3-Hydroxyphenylacetic (Phe, Tyr)	348.68 ↑	5.72 – 120.58 Umol/mmol KREA
5.2	3-hydroxyhippuric (Phe, Tyr)	165.18 ↑	0–49.8 Umol/mmol KREA
5.3	4-hydroxybenzoic (Phe, Tyr)	297.35 ↑	28.56 – 233.38 Umol/mmol KREA
5.4	Hippuric (Phe, Tyr)	3279.84 ↑	50.26 – 3067.48 Umol/mmol KREA
5.5	5-Hydroxyindoleacetic (Trp)	17.48 ↓	43.4 – 463.14 Umol/mmol KREA
5.6	5 – Oxoproline	26.91 ↓	30.02 – 74.57 ммоль/моль KREA
6	<b>Метаболиты костной и соединительной ткани, нарушении обмена АК пролина (Pro), глицина (Gly)</b>		
6.1	5-Oxoproline	26.91 ↓	30.02 – 74.57 ммоль/моль KREA
6.2	Hippuric (Gly)	3279.84 ↑	50.26 – 3067.48 Umol/mmol KREA
7.	<b>Метаболиты нейротрансмиттеров</b>		
7.1	5-Hydroxyindoleacetic (Серотонин)	17.48 ↓	43.4 – 463.14 Umol/mmol KREA
8.	<b>Метаболиты АК фенилаланина (Phe), тирозина (Tyr)</b>		
8.1	4-hydroxybenzoic (Phe, Tyr)	297.35 ↑	28.56 – 233.38 Umol/mmol KREA
8.2	3-hydroxyhippuric (Phe, Tyr)	165.18 ↑	0 – 49.8 Umol/mmol KREA
8.3	Hippuric (Phe, Tyr)	3279.84 ↑	50.26 – 3067.48 Umol/mmol KREA
9	<b>Метаболиты АК триптофана (Trp), лизина (Lys), гистидина (His), аргинина (Arg)</b>		
9.1	5-Hydroxyindoleacetic (Trp)	17.48 ↓	43.4 – 463.14 Umol/mmol KREA
10	<b>Кетоз; метаболиты АК с разветвленной цепью: лейцина (Leu), изолейцина (Ile), валина (Val)</b>		
10.1	Erythronilic (Ile)	142.21 ↑	0 – 76.19 Umol/mmol KREA
10.2	2-Ethylhydracrylic (Ile)	31.77 ↑	0 – 12.76 Umol/mmol KREA
10.3	3-Hydroxyisobutyric (Val, тимин)	18.45 ↑	1.26 – 13.73 Umol/mmol KREA
11.	<b>Метаболиты АК глутамина (Gln), глутаминовой кислоты (Glu), аспарагиновой кислоты (Asp), истощения глутатиона</b>		
11.1	5-Oxoproline (↓glutathione)	26.91 ↓	30.02 – 74.57 ммоль/моль KREA
11.2	Citric (↓glutathione)	23.48 ↓	25.7 – 678.3 ммоль/моль KREA
12.	<b>Индикаторы активности витаминов B<sub>1</sub> (тиамина), B<sub>3</sub> (никотинамида, PP), магния (Mg), хрома (Cr), ванадия (V)</b>		
12.1	2-Hydroxybutyric (B <sub>1</sub> , B <sub>3</sub> )	1.72 ↑	0 – 1.67 ммоль/моль KREA
12.2	5-Oxoproline	26.91 ↓	30.02 – 74.57 ммоль/моль KREA
13.	<b>Индикаторы активности коэнзима Q<sub>10</sub></b>		
13.1	2-Hydroxybutyric	1.72 ↑	0 – 1.67 ммоль/моль KREA
14.	<b>Метаболиты, которые могут быть повышены при отравлении</b>		
14.1	5-Oxoproline	26.91 ↓	30.02 – 74.57 ммоль/моль KREA
14.2	Citric (↓glutathione)	23.48 ↓	25.7 – 678.3 ммоль/моль KREA
14.3	Phenoxyacetic (отравление пестицидами; прием пенициллина V)	114.9 ↑	0 – 1.85 ммоль/моль KREA
15	<b>Метаболиты приема полифенолов и флавоноидов с пищей</b>		
15.1	Hippuric	3279.84 ↑	50.26 – 3067.48 Umol/mmol KREA

## МОНОГЕННІ ХВОРОБИ

При исследовании органических кислот мочи (табл. 6) выявлены изменения метаболитов: истощения глутатиона, нельзя исключить недостаточность серотонина или триптофана, нарушения микрофлоры ЖКТ.

Таблица 7

### Аминокислотный анализ сыворотки крови

Аминокислоты	Кол-во, мг	Норма, мг крови	% по мг	Норма, мг/%
Лизин	3,276 ↑	1,825-3,106	10,55 ↑	9,04
Гистидин	1,051	0,517-1,562	3,39	5,15
Аргинин	1,800 ↑	0,256-1,740	5,80	5,97
Орнитин	2,805 ↑	0,345-1,008	9,04	3,42
Аспарагиновая к-та	1,313 ↑	0,044-0,334	4,23	0,77
Треонин	1,641 ↑	0,890-1,483	5,29	5,74
Серин	2,371 ↑	0,879-1,871	7,64	5,70
Глутаминовая к-та	1,021	0,344-1,415	3,29	2,32
Пролин	1,438	1,027-3,044	4,63	8,73
Глицин	2,703 ↑	1,106-2,120	8,71	7,11
Аланин	3,776	2,163-3,922	12,17	12,32
Цистин	0,333	0,324-1,200	1,07	3,86
Валин	2,194	2,065-2,950	7,07	10,50
Метионин	0,344	0,167-0,400	1,11	1,32
Изолейцин	0,595	0,484-0,936	1,92	2,99
Лейцин	1,474	1,275-2,009	4,75	6,30
Тирозин	1,437	0,835-1,733	4,63	5,08
Фенилаланин	1,464 ↑	0,750-1,442	4,72	3,67
<b>Сумма</b>	31,034			
Глутамин	11,993 ↑	5,500-10,610		
<b>Аммиак</b>	1,576 ↑	0,382-1,147		

Аминокислотный анализ сыворотки крови (табл. 7) характеризуется нерезко выраженными изменениями, не свидетельствующими о наличии самостоятельной нозологической единицы нарушения обмена аминокислот. Показатели уровня метионина соответствуют референтным значениям нормы и это не противоречит высказанном предположении о мягкой гомоцистинурии.

Таблица 8

### Клинический анализ крови

№ п/п	Показатель	Результат	Референтные значения
1	Лейкоциты	10,7 ↑	4,5-10,0 $10 \times 10^9$ клеток/л
2	Эритроциты	4,87 ↑	3,5-4,5 $\times 10^{12}$ клеток/л
3	Гемоглобин	132 г/л	110-145 г/л
4	Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH)	27,3 пг ↓	28-32 пг
5	Тромбоциты	485 ↑	160-390 клеток/л $10 \times 10^9$
6	Ширина распределения тромбоцитов по объемам	9,6% ↓	10,0-20,0 %
7	Лимфоциты	45,6 %	26-60%
8	Эозинофилы	5,3%	0,5-7,0%

В клиническом анализе крови (табл. 8) повышено количество тромбоцитов, что может быть ассоциировано с наличием аллелей риска наследственной тромбофилии (MTR 2756 GG, MTRR 66AG, PAI – 675 (5G/4G), AGT II 235 TT).

Динамика содержания гормонов в крови

№ п/п	Возраст	Тесты	Результат	Референтные значения
1	8 мес.	T <sub>4</sub> свободный	11,9 пмоль/л	11,5-23,0
		ТТГ	1,48 млод/л	0,17-4,05
2	11 мес.	T <sub>4</sub> свободный	16,8 пмоль/л	11,5-23,0
		ТТГ	0,39 млод/л	0,17-4,05
3	1 год 1 мес.	T <sub>4</sub> свободный	11,3 пмоль/л	11,5-23,0
		ТТГ	0,64 млод/л	0,17-4,05
4	1 год 3 мес.	T <sub>4</sub> свободный	1,498 пмоль/л	11,5-23,0
		ТТГ	1,01 млод/л	0,17-4,05
5	1 год 6 мес.	T <sub>4</sub> свободный	10,8 пмоль/л	11,5-23,0
		ТТГ	0,79 млод/л	0,17-4,05
6	1 год 10 мес.	T <sub>4</sub> свободный	13,7 пмоль/л	11,5-23,0
		ТТГ	0,48 млод/л	0,17-4,05
7	2 года 2 мес.	T <sub>4</sub> свободный	11,0 пмоль/л	11,5-23,0
		ТТГ	0,4 млод/л	0,17-4,05
8	3 года 5 мес.	T <sub>4</sub> свободный	11,2 пмоль/л	11,5-23,0
		ТТГ	0,68 млод/л	0,17-4,05

Учитывая, что в институте Chiari de Barcelona dr. Mignel B. Rojo Salvador успешно оперирует больных с синдромом Арнольда – Киари, в чем мы убедились, посетив ранее его клинику, мы обратились к нему за помощью и профессор выразил готовность к незамедлительной помощи – операции после предварительной МРТ спинного мозга (торакальной и люмбосакральной области).

Однако при первой же попытке МРТ спинного мозга была затруднена интубация, которую не удалось провести вследствие сложного порока гортани. На этом этапе операцию пришлось отложить и продолжать комплексную симптоматическую реабилитацию в соответствии с установленным диагнозом: Краниометафизарная дисплазия. Гомоцистинурия. Генетический гомозиготный компаунд MTHFR 677TT/MTR 2756GG. Аллели риска наследственной тромбофилии (MTR 2756 GG, MTRR 66AG, PAI-675 (5G/4G), AGT II 235 TT). Вторичная митохондропатия. Гипотиреоз. Хронический пиелонефрит. Рецидивирующий бронхит. Симптоматическая (патогенетическая) терапия в значительной степени дала положительный эффект в развитии ребенка – девочка заговорила, стала активно двигаться, проявлять интерес к окружающему миру и его познанию.

Анализ данного наблюдения в реальном масштабе времени позволил нам предположить, что у ребенка на фоне генетической мутации проявились клинически значимые признаки другой мутации, оказавшей, по-видимому, аддитивный эффект. Вовлеченность ключевого фермента фолатно-метионинового цикла, участвующего в биосинтезе нуклеотидов и в обеспечении главного модификатора генома – метилирования, дало нам основание предположить, что в представленном наблюдении заболевание можно отнести к кате-

гории не только генетических, но и эпигенетических.

**Заключение:** Ежедневные консультации больных с наследственной патологией ставят нас перед вызовом, когда мы пытаемся обнаружить с помощью молекулярно-генетических методов мутационную основу заболевания. Практически всегда мы наталкиваемся на наличие тех или иных триггеров, сильных факторов внешней среды, влияющих на фенотипические характеристики того или иного наследственного заболевания. Поскольку установлено, что такие моногенные расстройства как синдромы Ангельмана, Видеманна-Беквита, Рассела-Сильвера могут быть вызваны либо геномными мутациями, либо мутациями, которые влияют на эпигеном и могут быть как возникшими de novo или унаследованными, все чаще нам приходится выяснять, не лежат ли такие молекулярные вариации в основе и других наследственных нарушений. Для ответов на эти вопросы мы встали на длинный путь исследования взаимодействия генетики и эпигенетики и находимся лишь в его начале. Накопление наблюдений и детальное изучение их клинических, биохимических, эпигенетических и молекулярных характеристик позволит двигаться быстрее навстречу пониманию. Приведенное наблюдение нам представляется убедительным доказательством вовлеченности генетических и эпигенетических мутаций в клинические проявления сложных фенотипов.

Мы приносим искреннюю признательность родителям нашей пациентки, которые мужественно и настойчиво делают все для своей дочери, чтобы улучшить ее жизненный комфорт. Они передали всю информацию о ней с искренним стремлением обогатить знания врачей.



СПИСОК ЛІТЕРАТУРЫ:

1. Ванюшин Б.Ф. Эпигенетика сегодня и завтра. Вавиловский журнал генетики и селекции, 2013. – Том 17, № 4/2 С.805-832.
2. Эллис С.Д.. Эпигенетика. М.: Техносфера, 2010. – 496 с.
3. D. Papachristodoulou et al. Biochemistry and Molecular biology 5<sup>th</sup> edition, Oxford University press, 2014. – 591 P.
4. Kenneth Lyons Jones. Smith's Recognizable patterns of human malformation. 6<sup>th</sup> edition, Philadelphia. – 2006. – 954 P

*О.Я. Гречанина, Ю.Б. Гречанина, І.А. Волобуєва, О.Ю. Вернігор*

**Краніометафізарна дисплазія (ANKH-Gen c.1124-1126del відповідно до NCBI NM\_054027.4, ATG=+1) (p.Ser375del, Htzg) на фоні легкої гомоцистинурії (MTHFR 677 TT), поліморфізмів MTR 2756 GG, MTRR 66AG, PAI – 675 (5G/4G), AGT II 235 TT. Епігенетична хвороба?**

**Резюме.** Генетична гетерогенність і клінічний поліморфізм на дослідній патології в даний час набуває все більше значення в уточненій діагностиці, затруднюючи її ефективність. Успіхи молекулярної генетики відкривають путь до персоналізованої характеристики генетично гетерогенних форм хвороб. Серед багатьох чинників, які визначають геномне здоров'я людини, все більше значення набуває епігенетичний статус. Його дослідженню присвячені багато робіт вітчизняних і зарубіжних авторів. Твердження Медавара П. про те, що «генетика предполагає, а епігенетика располає» відображає справжній стан справ в уточнюючій діагностиці. Метилування визнано основним модифікатором геному і це дає підстави для поглиблення інтересу до фолатно-метіонінового циклу. D. Papachristodoulou et al. (2014) в монографії «Біохімія і молекулярна біологія», лаконічно охарактеризував медичний ефект дефіциту фолатів, добре вивчений у світі. У цьому світі наше дослідження направлено на вивчення ролі дефіциту фолатів в клінічному прояві моногенних хвороб, викликаних «точковими» мутаціями.

У роботі представлено спостереження краніометафізарної дисплазії (КМД) в поєднаннях з м'якою гомоцистинурією і декількома поліморфними генами, асоційованими з дефіцитом фолатів. Це унікальне за ступенем вираженості клінічних проявів важкої форми даного синдрому, спостереження.

**Ключові слова:** Краніометафізарная дисплазія; легка гомоцистинурія; поліморфізми; дефіцит фолатів; феномен синтропії.

*Е.Ya. Grechanina , Yu.B. Grechanina, I.A. Volobueva, O.Yu. Vernigor*

**Craniometaphyseal dysplasia (ANKH-Gen c .1124-1126del in accordance with NCBI NM\_054027.4, ATG=+1) (p.Ser375del, Htzg) against the background of mild homocystinuria (MTHFR 677 TT), MTR 2756 GG, MTRR 66AG, PAI – 675 (5G/4G), AGT II 235 TT polymorphisms. Epigenetic disease?**

**Abstract:** Genetic heterogeneity and clinical polymorphism of hereditary diseases are now becoming increasingly important in specifying the diagnosis, hampering its effectiveness. Advances in molecular genetics have opened the way to personalized characterization of genetically heterogeneous forms of diseases. Among the many factors that determine the genomic human health, epigenetic status is becoming increasingly important. The numerous works of native and foreign authors are dedicated to his study. P. Medawar's quotation that "genetics proposes, epigenetics disposes." And that, perhaps, reflects the true state of affairs. Methylation is considered as a key modifier of the genome and this was the basis for deepening interest in the folate-methionine cycle, which is closely associated with methylation. D. Papachristodoulou et al. (2014) in the book "Biochemistry and Molecular Biology" described in a concise way the medical effect of folate deficiency (Medical effects of folate deficiencies), a well-studied in the world. In this light, our study aims to examine the role of folate deficiency in the clinical manifestation of monogenic diseases caused by "point" mutations.

In this work, the observation of craniometaphyseal dysplasia (CMD) in combination with mild homocystinuria and several polymorphic genes associated with folate deficiency is shown. This is the first in literature that is unique in the degree of severity of the clinical manifestations of a severe form of the syndrome.

**Keywords:** craniometaphyseal dysplasia; mild homocystinuria; polymorphisms; folate deficiency; syntropy phenomenon.

Надійшло до редакції 26.11.2018р.  
Підписано до друку 17.12.2018р.

*Т.В. Нікітчина, І.Ю. Гордієнко, О.М. Таранурова, О.О. Ващенко*  
 ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології ім. академіка  
 О.М. Лук'янової НАМНУ», відділення медицини плода, м. Київ

## ПОЛІМОРФІЗМИ ТА ІНВЕРСІЇ ХРОМОСОМ В ПРЕНАТАЛЬНІЙ ДІАГНОСТИЦІ ПАТОЛОГІЇ ПЛОДА

**Резюме.** В статті проведено теоретичний аналіз та узагальнення результатів власного досвіду відносно пренатального визначення хромосомних варіантів. Серед 3947 пренатально цитогенетично обстежених плодів визначено 73 (1,8%) випадки хромосомного поліморфізму, а також 34 (0,9%) випадки перичентричної інверсії хромосоми 9. Природжені вади чи ознаки патологічного розвитку плода діагностовані в 35,6% випадків визначених поліморфізмів та 38,2% випадків перичентричної інверсії хромосоми 9.

**Ключові слова:** каріотип; пренатальна діагностика; поліморфізм; інверсії хромосом.

**Вступ.** Поліморфізм хромосом людини дуже різноманітний за своїми проявами. Збільшені або зменшені поліморфні ділянки на хромосомах 1, 9, 13, 14, 15, 16, 21, 22 та Y, а також гетерохроматинові блоки хромосом 1, 9, 16, Y, які можуть формувати вторинну перетинку та інтенсивно забарвлюються при С – та Q-фарбуванні, прицентромірні гетерохроматинові ділянки, супутники та супутничні нитки акроцентричних хромосом (13, 14, 15, 21 та 22) – згідно міжнародної номенклатури (ISCN), відносять до варіантів нормальної варіабельності хромосом [1]. Більшість досліджень з проблем поліморфізму, які проводяться в постнатальному періоді онтогенезу людини дозволяють визначити, що екстремальні варіанти хромосом 1, 9, 16 зустрічаються з підвищеною частотою у хворих з синдромом Дауна, розумовою відсталістю, синдромом Тернера, Кляйнфельтера, серед шлюбних пар з первинним невиношуванням вагітності [2, 3]. Однак, ці дані поки що не дають права робити висновки про вплив поліморфізму на внутрішньоутробний розвиток людини.

Також неможливо довести і вплив дуже мінливих районів гетерохроматину чи ядерцевоорганізуючих регіонів (ЯОР) на життєздатність ембріону або їх вплив на онтогенез [4]. Залишаються нез'ясованими структурно-функціональні особливості ЯОР хромосом людини в клітинах ембріональних та екстраембріональних тканин, закономірності успадкування і мінливості рівня експресії індивідуальних ЯОР та їх внесок в загальну варіабельність генів, а також фактори, які впливають на ці процеси.

Не зважаючи на багаточисельні спроби виявити вплив тих чи інших варіантів хромосом на фенотипічні та клінічні прояви їх носіїв, питання про функціональне значення хромосомного поліморфізму залишається далеким від свого

вирішення [5, 6].

**Матеріали та методи.** Пренатальні ультразвукові дослідження (УЗД) в реальному масштабі часу проводились на апаратах ACCUVIX V20EX-EXP, ACCUVIX V10LV-EX. Інвазивні процедури виконувались за стандартом, відповідно показанням [7].

Для цитогенетичного дослідження біоптата хоріона та плаценти використовували прямий метод фіксації [E. Flori et al., 1985; В.С. Баранов и др., 1990] з власною модифікацією. Культивування та фіксацію лімфоцитів пуповинної крові проводили з використанням напівмікрометода [D.Hungerford et al., 1965]. Препарати хромосом аналізували за допомогою світлових мікроскопів BX51 (Olympus) та BX53 (Olympus) на збільшенні x10000, а також програми «GENASIS» (ASI). Запис результату аналізу проводили за міжнародною номенклатурою (ISCN).

**Результати та обговорення.** У відділенні медицини плода ДУ «І ПАГ ім. академіка О.М. Лук'янової НАМН України» проведення пренатальної цитогенетичної діагностики 3947 жінкам групи високого ризику надало можливість діагностувати хромосомні варіанти в 107 (2,71%) випадках. Зміни гетерохроматинових районів каріотипу були відзначені в 38 (35,5%) випадках, поліморфізми ЯОР в 35(32,7%) випадках, а також визначені 34 (31,8%) випадки перичентричної інверсії хромосоми 9.

В наших дослідженнях склад визначених гетерохроматинових хромосомних варіантів був наступним: зміни гетерохроматинових С-блоків хромосоми 1 – 3 (7,9%) випадки, хромосоми 9 – 11 (28,9%), хромосоми 16 – 7 (18,5%), Y хромосоми – 17 (44,7%) випадків.

Серед визначених поліморфних варіантів хромосом спостерігалось два випадки сполучених поліморфізмів, в обох випадках пов'язаних з

хромосомами 13 та 16.

Виходячи з аналізу наведених результатів, слід відзначити, що частіше представлені хромосомні варіанти хромосом 9 – 28,9% та Y – 44,7%. Такі дані повністю співпадають з результатами, що отримані іншими авторами [3, 5].

Серед плодів з діагностованим поліморфним варіантом каріотипу 9qh+, вагітні жінки у 6 (54,5%) випадках потрапили до групи високого ризику в зв'язку зі зміною біохімічних показників, у 3 (27,3%) випадках – при діагностованих природжених вадах розвитку (ПВР) плода, а також у 2 (18,2%) – при вагітності у жінок старше 40 років. Також, звертає на себе увагу кількість плодів з діагностованими ПВР при поліморфних варіантах хромосоми Y – 4 (23,53%) випадки.

За літературними даними відомо, що гетероморфізм гомологів по районам 1qh, 9ph, 9qh, 16qh і деякі варіанти Yqh можуть негативно впливати на репродуктивну функцію, а варіант Yqh+ супроводжуватись і психоемоційними особливостями поведінки [3, 8, 14].

Поліморфізм числа аргентофільних ядерцевоорганізуючих регіонів хромосом є чітко встановленим. Вони мають різну інтенсивність фарбування на різних ЯО-хромосомах, а також міжіндивідуальний поліморфізм. Міжіндивідуальні відмінності спостерігаються як по числу хромосом з функціонально активними ЯОР в каріотипі, так і по їх активності [4, 5, 9].

Нами визначено 35 (32,7%) випадків із змінами ЯОР. Зміни розмірів супутників та супутникових ниток хромосоми 13 склали 2 (5,7%) випадки, хромосоми 14 – 6 (17,2%), хромосоми 15 – 10 (28,6%), хромосоми 21 – 4 (11,4%) та хромосоми 22 – 12 (34,3%) випадків відповідно. Крім того, був діагностований один рідкісний варіант супутників на довгому плечі хромосоми Y (2,8%).

Цитогенетичне дослідження проводилось у зв'язку з віком вагітної у 12 (34,3%) випадках діагностованих ps, pstk та cenh, у 12 (34,3%) випадках – в зв'язку зі зміною біохімічних показників, а в 11 (31,4%) випадках показаннями для проведення пренатальної цитогенетичної діагностики були діагностовані під час УЗД маркери хромосомної патології (ХП) та ПВР.

Під час виконання дослідження ми намагались встановити зв'язок визначених поліморфних варіантів хромосом плода у жінок групи високого ризику з пренатальним діагнозом, що став показанням для проведення пренатальної цитогенетичної діагностики (табл. 1).

Таким чином, оцінивши результати досліджень, ми спостерігаємо підвищену кількість поліморфних змін гетерохроматинових блоків та зміни ядерцевоорганізованих районів у плодів жінок груп високого ризику, які скеровані на пренатальну діагностику у зв'язку з ПВР плода.

Таблиця 1.

Розподіл поліморфних варіантів хромосомного набору плода, виявлених при різних показаннях у жінок групи високого ризику.

№ групи	Показання	Обстежено жінок абс.ч. (%)	Виявлено поліморфізмів абс.ч. (%)
1	Біохімічні маркери ХП	1497 (37,9)	26 (1,7)
2	УЗ-маркери ХП	774 (19,6)	12 (1,6)
3	Вік вагітної	1078 (27,3)	21 (1,9)
4	ПВР плода	598 (15,2)	14 (2,3)
Загальна кількість		3947	73 (1,8)

Також, звертає на себе увагу і той факт, що при аналізі пренатальних діагнозів плодів з поліморфізмом гетерохроматинових регіонів хромосом та ЯОР у 26 (35,6%) з 73 випадків відзначались ПВР та УЗ маркери патологічного розвитку плода.

Особливої уваги заслуговує проблема вивчення інверсії хромосоми 9. Це одна з найпоширеніших структурних збалансованих перебудов. Якщо брати до уваги метацентричні та субметацентричні хромосоми, хромосома 9 представляє найвищий ступінь морфологічних варіантів [10].

Незважаючи на те, що перичентричну інверсію хромосоми 9 також вважають хромосомним варіантом, немає однозначної відповіді на запитання, чи може вона призвести до порушення розвитку нащадків носія *inv(9)* після проходження гаметогенезу.

За даними одних авторів у носіїв даної інверсії в процесі гаметогенезу блокується кросинговер, інші вважають, що між нормальним гомологом та перичентрично інвертованою ділянкою може відбутись нерівний кросинговер, при якому має місце втрата та/або подвоєння хромосомного матеріалу [11].

Інший аспект цієї проблеми – ефект гетерохроматинізації, при якому гени, що розміщуються близько до гетерохроматинового блоку, репресуються.

В наших дослідженнях перичентрична інверсія хромосоми 9 була визначена у 0,9% випадків серед 3947 обстежених плодів жінок групи високого ризику.

Каріотиби з *inv(9)* були діагностовані у 8 (23,5%) з 34 плодів при вагітності у жінок після 37 років. В одному з вище зазначених випадків було діагностовано хромосомну патологію плода (47, XXУ, *inv(9)*).

Під час виконання роботи ми діагностували 2 (5,9%) випадки хромосомної патології у плода (транслокантна форма с-ма Дауна, с-м Клайнфельтера), що супроводжувались інверсією хромосоми 9.

За даними ряду авторів, в родинах носіїв *inv(9)* значно частіше відбувається внутрішньоутробна загибель плодів, ніж в родинах носіїв збалансованих транслокацій, причому, в групі батьків дітей з аномаліями розвитку (МПВР, ЗВУР, МАР) та невиношуванням вагітності в анамнезі частота інверсії хромосоми 9 вища за популяційну у 3,8 разів [12]. За нашими даними у 13 (38,2%) з 34 плодів, з пренатально цитогенетично діагностованою інверсією хромосоми 9, було визначено природжені вади та маркери патологічного розвитку плода (таблиця 2).

Таблиця 2.

Випадки пренатально визначеної інверсії 9 хромосоми при природжених вадах та маркерах патологічного розвитку плода.

№ п/п	Пренатальні діагнози	абс. ч. (%)
1	аплазія артерії пуповини	1 (7,69)
2	діафрагмальна кила, гілоплазія легень	2 (15,39)
3	тетрада Фалло	1 (7,69)
4	атрезія товстої кишки	1 (7,69)
5	ДМШП	1 (7,69)
6	ДМШП, кісти судинних сплетінь	1 (7,69)
7	пієлоектазія правої нирки	1 (7,69)
8	розщелина верхньої губи, щелепи та піднебіння	1 (7,69)
9	кіста загального жовчного протоку	1 (7,69)
10	розширення комірцевого простору	1 (7,69)
11	кісти судинних сплетінь	2 (15,39)
	Всього	13 (38,2)

Цю тему продовжують також постнатальні дослідження інших авторів, що показують високу частоту *inv(9)* (9,33%) в групі дітей з природженими вадами розвитку, дизморфічними рисами або відставанням у психомоторному розвитку [12]. Також були описані і випадки гомозиготного

носіїства інверсії хромосоми 9 (46, XX, *inv(9)* (p11q13) x 2) у фенотипово нормальної жінки з мертвородженням на 28 тижні гестації, а також випадки пренатальної діагностики гомозиготного носійства інверсії 9 у плодів, батьки яких були гетерозиготами по інверсії 9 [15].

Дотогож, в наших дослідженнях звертають на себе увагу 35 (32,7%) випадків, коли хромосомний поліморфізм та інверсію було діагностовано під час проведення пренатальної цитогенетичної діагностики при наявності біохімічних маркерів хромосомної патології плода. Такі хромосомні особливості можуть супроводжуватись хибно-позитивним результатом скринінгу на синдром Дауна у другому триместрі вагітності [16].

**Висновки.** Аналіз 107 випадків пренатальної цитогенетичної діагностики хромосомного

поліморфізму та інверсії хромосоми 9 показав наявність природжених вад та ознак патологічного розвитку у 39 (36,4%) плодів. Ці спостереження поки що не піддаються поясненню з позиції сучасної цитогенетики, що свідчить про необхідність проведення подальших досліджень у цьому напрямку, з метою розробки комплексу профілактичних заходів для попередження розвитку відхилень у пацієнтів з особливостями будови гетерохроматину та ЯОР.

#### ЛІТЕРАТУРА.

- Mitelman F. ISCN 2013: An international system for human cytogenetic nomenclature, L.G. Shaffer, J.McGowan-Jordan, M. Schmid (eds); S.Karger, Basel 2013. – P.1-140.
- Ворсанова С.Г., Юров І.Ю., і др. Исследование вариаций гетерохроматиновых районов хромосом у супружеских пар с нарушением репродуктивной функции: применение молекулярно-цитогенетических технологий // *Фундаментальные исследования*. – 2012. – №9-4. – С.801-806.
- Руднік Н., Шевчук Т., Поручинська Т. Роль цитогенетичної діагностики у виявленні хромосомної патології та поліморфізмів хромосом у постнатальному періоді розвитку у Волинській області // *Науковий вісник Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки. РОЗДІЛ IV. Фізіологія людини і тварин*. – 2015. – №2. – с.204-211.
- Трофимова І.Л., Евдокименко Е.В., Кузнецова Т.В. Особенности митотической активности клеток цитотрофобласта хориона у эмбрионов первого триместра беременности // *Ж. акуш. и жен. болезн.* – 2012. – №3. – с.115-122.
- Амелина І.В., Аникеев Р.А. Влияние ядрышкообразующих районов хромосом в формировании соматометрических характеристик человека // *Актуальные проблемы социально-гуманитарного и научно-технического знания*. – 2014. – №1(2).-с.76-79.
- Гордиенко І.Ю., Никитчина Т.В., Бадюк В.М., Жайворонок О.А. Пренатальная цитогенетическая диагностика инверсии хромосомы 9 при нормальном и аномальном развитии плода // *Пренатальная диагностика*. – 2010. – №3. – с. 260-263
- Гордиенко І.Ю., Тарапурова О.М., Нікітчина Т.В. та ін. Ультразвукові маркери хромосомних та структурних аномалій плода в другому триместрі вагітності // *Методичні рекомендації*. – Міністерство охорони здоров'я України, ДУ «Центральний методичний кабінет з вищої медичної освіти МОЗ України» – Київ – Харків, 2013. – 36 с.
- Yamini Sharad Pokale Does a Heterochromatic variant affect the Human Reproductive outcome? // *Research Journal of Recent Sciences*. – 2015.- Vol. 4(IYSC-2015).-p. 108-113.
- Ворсанова С.Г., Юров І.Ю., Соловьев І.В. Гетерохроматиновые районы хромосом человека: клиника-биологические аспекты./М.: «Медпрактика-М». – 2008. – С.131-155.
- Kosyakova et al.: Heteromorphic variants of chromosome 9 // *Molecular Cytogenetics*. – 2013.-№ 6.-p.14-25
- Joseph-George A.M., He Y, Marshall C.R. et al. Euchromatic 9q13-q21 duplication variants are tandem segmental amplifications of sequence reciprocal to 9q13-q21 deletions. // *J Med Genet*. – 2011. – Vol.48(5). – p.317-322.
- Baghbani F., Mirzaee S., Hassanzadeh-Nazarabadi M. Association of heteromorphism of chromosome 9 and recurrent abortion (ultrasound diagnosed blighted ovum): A case report.// *Iranian Journal of Reproductive Medicine*. – 2014.-№12(5):357-360.
- Šípek A.Jr., Panczak A. et.al. Pericentric Inversion of Human Chromosome 9 Epidemiology Study in Czech Males and Females // *Folia Biol (Praha)*. – 2015. – Vol. 61(#4). –p.140-146.
- Wang J-C, Boyar F.Z. Chromosomal microarray analysis as the first-tier test for the identification of pathogenic copy number variants in chromosome 9 pericentric regions and its challenge. // *Molecular Cytogenetics*. – 2016. – №9. – p.64-72.
- Mohit Kumar, Atul Thatai, Shilpa S. Chapadgaonkar. Homozygosity and heterozygosity of the pericentric inversion of chromosome 9 and its clinical impact. // *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. – 2012. – vol.6. – p.816-820.
- Kumavat Shailesh Unexpected Prenatal Cytogenetic Results in Positive Maternal Serum Screening Cases. // *International Research Journal of Medical Sciences*. – 2014. – Vol. 2(11). – p.1-4.

*Т.В. Никитчина, И.Ю. Гордиенко, О.М. Тарапурова, О.О. Ващенко*

**ПОЛИМОРФИЗМЫ И ИНВЕРСИИ ХРОМОСОМ В ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ  
ПАТОЛОГИИ ПЛОДА**

**Резюме.** В статье проведен теоретический анализ и обобщение результатов собственного опыта относительно пренатального определения хромосомных вариантов. Среди 3947 пренатально цитогенетически обследованных плодов определено 73 (1,8%) случая хромосомного полиморфизма, а также 34 (0,9%) случая перичентрической инверсии хромосомы 9. В 35,6% случаев определенных полиморфизмов и 38,2% случаев перичентрической инверсии диагностированы врожденные пороки или признаки патологического развития плода.

**Ключевые слова:** кариотип; пренатальная диагностика; инверсии; полиморфизм хромосом.

*T.V. Nikitchyna, I.Yu. Gordienko, O.M. Tarapurova, O.O. Vashchenko*

**POLYMORPHISMS AND INVERSIONS OF CHROMOSOMES IN PRENATAL DIAGNOSIS  
OF FETAL PATHOLOGY**

**Resume.** In the article the theoretical analysis and generalization of the results of the own experience regarding prenatal diagnostics of chromosome variants was carried out. The prenatal chromosomal analysis among the 3947 fetuses was carried out, 73 (1,8%) cases of chromosomal polymorphism, and 34 (0,9%) cases of pericentric inversion of chromosome 9 was identified. There were diagnosed birth defects or signs of abnormal fetal development in 35,6% cases of identified polymorphisms and 38,2% cases of pericentric inversion.

**Keywords:** karyotype; prenatal diagnostics; chromosomal polymorphism; inversions.

Надійшло до редакції 30.11.2018р.  
Підписано до друку 21.12.2018р.

*Н.С. Дворниченко, Т.М. Ткачева, Н.Н. Квитчатая, И.Б. Иванова,  
О.Б. Хміль*

*Межобластной специализированный медико – генетический центр –  
центр редких (орфанных) болезней  
Харьковский национальный медицинский университет,  
кафедра медицинской генетики*

## **СЕМЕЙНЫЙ СЛУЧАЙ СБАЛАНСИРОВАННОЙ ТРАНСЛОКАЦИИ У РЕБЕНКА С ЗАДЕРЖКОЙ ПСИХОРЕЧЕВОГО РАЗВИТИЯ**

**Резюме.** Практически все хромосомные заболевания сопровождаются определенными неврологическими нарушениями, а именно: задержкой психомоторного, умственного и физического развития. Своевременное распознавание таких состояний имеет исключительно важное значение для проведения преконцепционной подготовки и планирования рождения здорового ребенка у супружеских пар, а также диагностики подобных расстройств у детей. Описан семейный случай сбалансированной хромосомной аномалии (транслокация между хромосомами 5 и 6). Ребенок в этой семье унаследовал такую же сбалансированную транслокацию, которая есть и у матери 46,XX,t(5;6)(q35;p21.3). Репродуктивные потери в анамнезе семьи обусловлены структурной хромосомной патологией у супруги и соответственно элиминацией плодов с хромосомным дисбалансом. Для носителей сбалансированных транслокаций существует также повышенный риск рождения детей с определенной степенью задержки, что и реализовалось в данной семье.

**Ключевые слова:** кариотип; сбалансированная транслокация; задержка психомоторного развития.

**Введение.** За последние десятилетия отмечается увеличение количества детей с теми или иными нервно – психическими нарушениями, которые называют задержкой психомоторного, умственного и физического развития. Этими признаками характеризуются практически все хромосомные заболевания, связанные с аномалиями аутосом или гоносом [3]. Своевременное распознавание таких состояний имеет исключительно важное значение для проведения преконцепционной подготовки и планирования рождения здорового ребенка у супружеских пар, а также диагностики подобных нарушений у детей. Данные расстройства стали объектом повышенного внимания психиатров, неврологов, генетиков и педиатров [6].

Особое значение приобретает изучение наследственных болезней в педиатрической практике, поскольку подавляющее большинство таких заболеваний проявляется в детском возрасте [5].

Достижения молекулярной биологии, общей и медицинской генетики позволили подойти к изучению проблемы задержки психомоторного развития у детей с позиций современной теории генетической информации. Внедрение в клинику цитогенетических методов способствовало выявлению хромосомных аномалий у таких пациентов [7].

Заподозрить хромосомную патологию можно по следующим признакам: множественные врожденные пороки развития (МВПР),

задержка психомоторного развития (ЗПМР), умственная отсталость (УО), особенности поведения (расторможенность, аутизм и др.), задержка речевого развития (ЗРР). Они могут быть изолированные или в сочетании с одним из следующих признаков: гипотрофия, любые нарушения половой дифференцировки, малые аномалии развития. При наличии в семейном анамнезе спонтанных аборт, мертворождений, детей с МВПР обследованию подлежит супружеская пара. Рождение детей с хромосомной патологией можно с высокой степенью вероятности предполагать при носительстве одним из супругов транслокаций или инверсий [1, 4]. В этой ситуации необходимо проведение пренатальной диагностики с целью определения кариотипа плода.

В литературе описаны семейные случаи, когда одни члены семьи, имея сбалансированный кариотип, здоровы, тогда как другие имеют признаки хромосомной болезни, в том числе и задержку развития [2]. Одним из объяснений данного проявления может быть феномен эффекта положения генов. Основной принцип этого феномена проявляется в том, что гены, которые оказались вблизи точек разрыва хромосом при формировании сбалансированной аномалии (в основном, речь идет о транслокациях), изменяют свое проявление, т. е. в одном окружении генов его функция вблизи точек разрыва в перестроенной хромосоме может быть изменена, тогда как в другом – сохранна [7].

**Матеріали і методи.** Проводилось сомато-генетическое, клініко-генеалогічне, біохімічне і цитогенетическое обстеження сім'ї, яка звернулася за медико-генетическим консультуванням в зв'язі з захворюванням дитини і подальшим плануванням вагітності. Матеріалом дослідження слугували метафазні хромосоми лімфоцитів периферическої крові, отримані стандартним методом культивування в теченні 72 годин з використанням ФГА. Ідентифікацію хромосом проводили згідно міжнародної системи номенклатури в цитогенетикі людини [8], після диференціального фарбування GTG і CTG – методами на комп'ютерній діагностическій системі Metasystems фірми Carl Zeiss.

**Результати і їх обговорення.** Приводимо власне клінічне спостереження. Сім'я П. звернулася в зв'язі з захворюванням дитини – затримка психореческого розвитку, порушення концентрації уваги, відсутність логічних висновків, стереотипії. Пробанд – хлопчик 6-ти років від ІІІ вагітності, 1-х фізіологічних родов в строці 40 нед. Дві попередні вагітності закінчилися самопроизвольними викиднями в строці 6 – 7 нед.; 4-я вагітність також закінчилась прериванням в строці 6 – 7 нед. Маса при народженні 3790 гр, ріст 54 см. С новонародженості дитина погано набирала вагу. В 2,5 міс. в зв'язі з збільшенням об'єму голови на нейросонографії виявлено збільшення внутрішчерепного тиску. С 3,5 міс. утримує голову, сидить с 7 міс., ходить с 1 року. В 2 роки почав відвідувати дитячий колектив, в зв'язі з поганим навчанням був переведений в коррекційну групу. Був консультуванний дефектологом і невропатологом – поставлений діагноз: гідроцефалія, резидуально-органіческа патологія ЦНС с синдромом

затримки психореческого розвитку, міотоніческій синдром. При первічному огляді в фенотипі звертали на себе увагу підвищена розтягність шкіри, єдиничні пігментні плями, міотонія, гіпертелоризм, широка спинка носа, коротка шия, яскраво рожева окраска долонь, м'язевий тонус дистонічний. Після проведенного біохімічного дослідження крові у дитини виявлена гіпергомоцістеїнемія (гомоцістеїн – 10,17 при нормі до 5 мкмоль/л), вторічна мітохондріальна дисфункція (лактатдегідрогеназа – 351,78 при нормі до 345 Ед/л). Фенотип батьків пробанда без особливостей. Родословна отягощена серцево-судинною патологією, інсультами і онкопатологією як с одной сторони батька, так і матері.

РЖ – Рак шлунка, ІНС – Інсульт, РЛ – Рак легків, ВРВ – Варикозне розширення вен, ІНФ – Інфаркт, РЖКТ? – Рак шлунково-кишкового тракту, ГБ – Гіпертоніческа хвороба, АД↓ – Артеріальне тиску понижено, АД↑ – Артеріальне тиску підвищено, мкІнс – Мікроінсульт, М – Міопія (Рис. 1).

Каріотип пробанда: 46,XY,t(5;6)(q35;p21.3) (рис.2); каріотип матері: 46,XX,t(5;6)(q35;p21.3); каріотип батька: 46,XY. Дитина в цій сім'ї успадкував таку ж сбалансовану транслокацію, яка є і у матері. Репродуктивні втрати в анамнезі сім'ї обумовлені структурною хромосомною патологією у подружжя і відповідно елімінацією плодів с хромосомним дисбалансом.

Така перебудова може обумовлювати народження, як здорових дітей, так і потомків с хромосомною патологією. Для носіїв сбалансованих транслокацій існує також підвищений ризик народження дітей с певною ступенем затримки, що і реалізувалось в даній сім'ї.

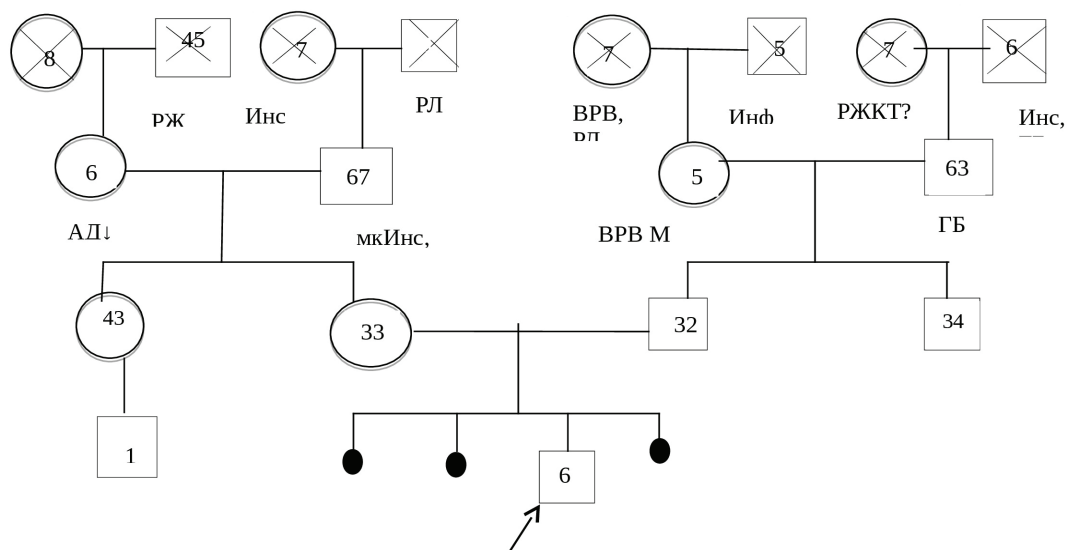


Рис. 1. Фрагмент родословної сім'ї П.



Можно предположить, что данная транслокация явилась причиной аномального фенотипа и задержки умственного развития у ребенка, а наличие подобной аномалии у фенотипически нормальной и умственно сохранной матери подтверждает это. Следовательно, неизвестно, какая из хромосомных перестроек или их сочетание

явились причиной аномалий. Подобные случаи могут говорить о возможности проявления эффекта положения генов. Несомненно, такие редкие случаи необходимо тщательно исследовать и описывать для дальнейшего сравнения с подобными аномалиями и задержкой умственного развития [3].

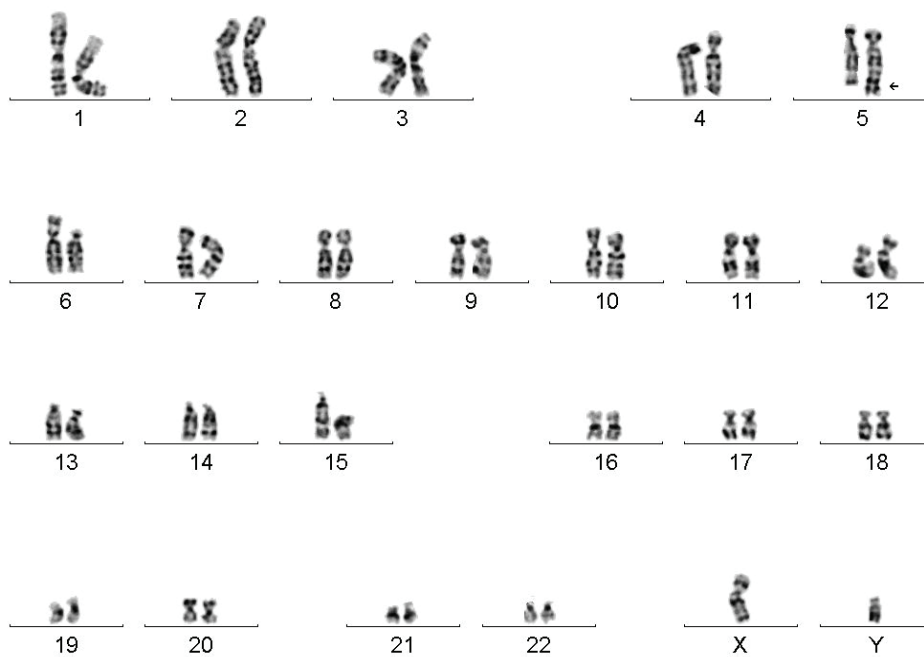


Рис. 2. Кариотип пробанда 46,XY,t(5;6)(q35;p21.3).

**Выводы.** Этиология задержки психомоторного развития и умственной отсталости во многих случаях сложна и не определяется единой причиной, а состоит из множества факторов. Эффективно помочь таким семьям избежать рождения больного ребенка может проведение преконцепционной профилактики и пренатальной диагностики — цитогенетическое исследование плода.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Бочков Н.П. Клиническая генетика: Учебник. – 2 – е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. 448 с.
2. Бочков Н.П. Наследственность и патология: общие вопросы. В кн.: Наследственные болезни: национальное руководство. Под ред, Н.П. Бочкова, Е.К. Гинтера, В.П. Пузырева. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. С. 372-385.
3. Ворсанова С.Г. Медицинская цитогенетика / С.Г.Ворсанова, Ю.Б. Юров, В.Н. Чернышов. – М.: Медпрактика, 2006. – С. 191 – 194.
4. Гречанина Ю.Б. Спадкові захворювання і остеопороз / Ю.Б. Гречанина, О.Я. Гречанина, О.П. Романенко. – Харків: ХНАДУ, 2011. – 616 с.
5. Гречанина Ю. Б. Особенности неонатального периода у детей с аутизмом / Ю.Б. Гречанина, С.В. Белецкая // Клінічна генетика і перинатальна діагностика. – 2015. – №1 (3). – С. 140 – 144.
6. Темин П.А., Казанцева Л.З. Наследственные нарушения нервно-психического развития детей. М.: Медицина, 2001. – 432 с.
7. Юров И.Ю., Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б. Геномные и хромосомные болезни центральной нервной системы: молекулярные и цитогенетические аспекты. – М.: Медпрактика, 2014.
8. Shaffer, L.J. ISCN 2013. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2013) /L.J. Shaffer, J. McGowan, Jordan, M. Schmid. – Basel: Karger, 2013. – 140 p.

*Н.С. Дворніченко, Т.М. Ткачова, Н.М. Квітчатта, І.Б. Іванова, О.Б. Хміль*

**СІМЕЙНИЙ ВИПАДОК ЗБАЛАНСОВАНОЇ ТРАНСЛОКАЦІЇ У ДИТИНИ З  
ЗАТРИМКОЮ ПСИХОМОВНОГО РАЗВИТКУ**

**Резюме.** Усі хромосомні захворювання супроводжуються певними неврологічними порушеннями, а саме: затримка психомоторного, розумового та фізичного розвитку. Своєчасне розпізнавання таких станів має виключно важливе значення для проведення прекоцепційної підготовки та планування народження здорової дитини у подружніх пар, а також діагностики подібних розладів у дітей. Представлено сімейний випадок збалансованої хромосомної аномалії (транслокація між хромосомами 5 і 6). Дитина успадкувала таку ж саму збалансовану хромосомну транслокацію, яка є у матері (46,XX,t(5;6)(q35;p21.3). Репродуктивні втрати в анамнезі сім'ї обумовлені наявністю структурної хромосомної патології у жінки та елімінацією плодів з хромосомним дисбалансом. Для носіїв збалансованих транслокацій ризик народження дітей із затримкою розвитку є підвищеним, що було реалізовано у даній сім'ї.

**Ключові слова:** каріотип; збалансована транслокація; затримка психомоторного розвитку.

*N.S. Dvornichenko, T.M. Tkacheva, N.N. Kvitchataya, I.B. Ivanova, O.B. Khmil*

**FAMILY CASE OF BALANCED TRANSLOCATION IN A CHILD  
WITH A DELAY OF PSYCHOVERBAL DEVELOPMENT**

**SUMMARY.** Almost all chromosomal diseases are accompanied by certain neurological disorders, namely: delayed psychomotor, mental and physical development. The timely recognition of such conditions is extremely important for therapeutic and preventive measures and diagnostics. A familial case of a balanced chromosomal abnormality (translocation between chromosomes 5 and 6) is described. The child in this family inherited the same balanced translocation that the mother also has 46,XX,t(5;6)(q35;p21.3). Reproductive losses in the family history are due to structural chromosomal abnormalities in the spouse and, accordingly, elimination of fetuses with chromosomal imbalance. For carriers of balanced translocations, there is also an increased risk of having children with a certain degree of delay, which was realized in this family.

**Key words:** karyotype; balanced translocation; delayed psychomotor development.

Надійшло до редакції 01.10.2018р.

Підписано до друку 28.11.2018р.

*Е.Я. Гречанина, Е.П. Здыбская, Л.В. Молодан, Ю.Б. Гречанина,  
М.В. Каныка, А.С. Сенаторова*

*Украинский институт клинической генетики ХНМУ,  
Межобластной специализированный медико-генетический центр — центр редких (орфанных)  
заболеваний*

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ УТОЧНЯЮЩЕЙ ДИАГНОСТИКИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ ОБМЕНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ / МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ НА ПРИМЕРЕ СИНДРОМА ННН

**Резюме.** В процессе уточняющей диагностики наследственных болезней обмена мы используем, в том числе, газовую хроматографию / масс-спектрометрию. Диагностическая значимость этого метода оказалась высокой. На примере ННН синдрома с гиперорнитинемией-гипераммониемией – гомотруллурией показана необходимость использования этого метода во всех случаях появления эпизодов гипераммонемии, возникновения признаков заболевания в раннем детском возрасте, приступообразного их характера на фоне действия триггеров (инфекции).

**Ключевые слова:** синдром ННН; гиперорнитинемия; гипераммониемия; гомотруллурия; газовая хроматография / масс-спектрометрия; орфанные болезни; тромбофилия.

**Постановка проблемы и ее значение.** Редкие наследственные болезни становятся глобальной проблемой медицины, манифестируя на всех этапах онтогенеза. Новая парадигма медицины (4P) с ее предиктивным, прогностическим, персонализированным и партнерским характером в значительной степени обязана своим утверждением появлению значительного числа трудноузнаваемых патологий, нередко представляющих собой «конгломераты болезней» (феномен гено – и фенотипической синтропии). Это обстоятельство усложняет раннюю диагностику, лечение и реабилитацию при редких заболеваниях (РЗ).

Установлено, что РЗ в 80% обусловлены генетическими причинами, а в остальном являются результатом инфекционных поражений, аллергии и действия экологических факторов. Среди РЗ наследственные нарушения обмена веществ являются наиболее многочисленными.

В начале 21 века было описано около 8000 РЗ [1], а на сегодняшний день имеется информация о 50000 врожденных нарушений метаболизма [2]. Применение в медицине классического клинического исследования и современных аналитических технологий является одним из необходимых условий точной и своевременной диагностики наследственных заболеваний. Метод газовой хроматографии масс / спектрометрии (ГХ-МС) позволяет анализировать органические кислоты (ОК) мочи. Анализ ОК методом ГХ-МС является необходимым этапом при уточнении диагноза у пациентов с подозрением

на органическую ацидурию. ОК входят в состав основных метаболитов фактически всех путей обмена малых молекул [3]. Метод ГХ-МС позволяет обнаружить и количественно охарактеризовать более 100 веществ в микроколичествах биологического материала [4].

Внедрение эффективных методов ранней диагностики РЗ, повышение уровня доступности высококвалифицированной помощи пациентам с РЗ является приоритетным направлением работы Харьковского специализированного медико-генетического центра (ХСМГЦ), который создает реестр семей с этой патологией и проводит диспансерное наблюдение за семьями. Внедрен селективный скрининг детей с наследственными болезнями обмена. Анализ аминокислот (АК), ОК проводится у каждого ребенка, у которого имеются признаки интоксикации, поражения головного мозга неясного генеза, неспецифической умственной отсталости, судорожного синдрома, задержки темпов психомоторного развития, сопровождаются упорной рвотой, отказом от еды, гипотрофией, респираторным и нейродистрессом, гепатолиенальным синдромом, аутистическим, агрессивным поведением, нарушением мышечного тонуса и т.д.

В работе используем командный стиль, при котором устанавливается диагноз с участием врача-генетика, нейрогенетика, педиатра, врача биохимика, молекулярного генетика, которые работают в составе Экспертного диагностического Совета.

**Цель исследования:** изучение информативности селективного скрининга с использованием метода газовой хроматографии / масс-спектрометрии органических кислот мочи у пациентов с подозрением на наследственную болезнь обмена для разработки подходов к патогенетической реабилитации.

**Материалы и методы:** Отбор детей в группы риска по подозрению на манифестацию наследственных болезней обмена (НБО) осуществлялся на консультативных приемах в Харьковском специализированном медико-генетическом центре (ХСМГЦ), а также при осмотре детей в областных детских клиниках, перинатальных центрах, реанимационных отделениях детских клиник. Ежегодно в центре осуществляется помощь 35000 пациентам с подозрением на различную наследственную патологию (из них 6000 при первичном обращении), выявляется более 300 различных нозологических единиц РЗ.

Хроматографический анализ выполнялся с помощью ГХ-МС (Agilent, ГХ 6890, МС 5975С).

За период с 2010 по июнь 2014 года было проведено 6000 исследований органических кислот в моче у пациентов с подозрением на НБО. В результате проведенных исследований было идентифицировано 139 клинически значимых органических соединений.

При этом дифференцировалось вероятное происхождение метаболитов.

**Так, выделены изменения метаболитов, не связанные с НБО:** бактериальное загрязнение образца (в том числе чрезмерным ростом дрожжей); прием пищи, богатой винной (пищевая добавка), яблочной и лимонной кислотами; отравление тяжелыми металлами (алюминием, литием, мышьяком, ртутью, свинцом); удаление паразитовидных желез; гиперпаратиреоз; аноксия; нарушения обмена АК и недостаточности кофакторов.

К метаболитам, не связанным с НБО отнесены также истощение или недостаточность глутатиона: (↓ 5-оксопролина, ↓ Лимонная кислота, ↑ или N(?) – Акониновая кислота, ↑ или N – Изолимонная, 2-оксоглутаровая, янтарная, фумаровая кислоты).

Обнаружение лимонной, акониновой, изолимонной кислот оценивалось в зависимости от многих факторов (образование из Ацетил-КоА, являющегося метаболитом окисления жирных кислот, гликолиза, глюкогенеза, аланина, аспартата, глутамин, лейцина, изолейцина, валина; повышение веществ, вызванные недостаточностью кофакторов; акониновая – недостаточность железа; изолимонная – недостаточность В3, магния, марганца).

Обнаруженная 2-Оксоглутаровая кислота

требовала учета того факта, что он является метаболитом цикла детоксификации аммиака через глутамин и глутамат; цикла аланина-аспартата; обмена аскорбиновой кислоты и альдератов; или может быть продуктом расщепления глутамин, глутаминовой кислоты, аргинина, гистидина, пролина; повышением при недостаточности кофакторов В1, В2, В3, В5, Mg, липоевой кислоты.

Учитывалось, что янтарная кислота является метаболитом деградации лейцина, изолейцина, валина; изменяется при недостаточности кофакторов В2 (рибофлавина), железа, коэнзима Q10. Фумаровая кислота – метаболит окисления фенилаланина, тирозина, аргинина и пролина; выявляется при недостаточности кофактора В3. Отмечалось, что яблочная кислота включена в сложный метаболический процесс: в ионизированной форме малат – промежуточный компонент цикла трикарбоновых кислот, следующий за фумаратом, предшественник оксалоуксусной кислоты. Помогает NADH поступать в митохондрию. Кроме того он может образовываться из пирувата как одна из анаплеотических реакций; определен при недостаточности кофакторов В3, ниацина, кофермента Q10.

#### Метаболиты, связанные с НБО:

Большинство болезней нарушения обмена цикла Кребса и ферментов дыхательной цепи сопровождаются повышением молочной кислоты в крови и моче и изменением метаболитов; по данным [www.geonme.jp](http://www.geonme.jp) к ним относятся недостаточность фумаразы, комплекса 2-кетоглутарат-дегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы, пируватдегидрогеназы, пируваткарбоксилазы, цитохром С оксидазы, Ковен-подобный синдром, 2-гидроксиглутаровая ацидурия.

• **2-Гидроксиглутаровая ацидурия:** известно 3 формы. Сопровождается значительным повышением 2-гидроксиглутаровой кислоты. Не сопровождается повышением уровня лактата.

• **Фумаровая ацидурия:** ↑↑↑ Фумаровая кислота 3000-4000 ммоль/моль креатинина; гипераммонемия; лактат-ацидоз.

• **Недостаточность комплекса 2-кетоглутаратдегидрогеназы:** ↑↑↑ 2-оксоглутаровая кислота; лактат-ацидоз; глюкоза – норма или ↑.

• **Недостаточность цитохром С оксидазы:** одновременно повышается яблочная, лимонная, фумаровая и 2-кетоглутаровая кислоты.

• **Недостаточность пируват**

**карбоксилазы:** гипераммонемия; лактат-ацидоз; глюкоза – норма или ↑; в плазме повышены аланин, цитрулин, лизин.

• **Недостаточность пируват дегидрогеназы (Е3):** гипераммонемия; лактат-ацидоз; глюкоза – норма или ↑; в плазме повышены изолейцин, лейцин, валин; в моче – метаболиты АК изолейцина, лейцина, валина.

С 2011 года отделение газовой хроматографии биохимической лаборатории ХСМГЦ участвует в программе ERNDIM Qualitative Organic Acid QA Scheme (Германия), которая проводится на базе Center for Metabolic Diseases Heidelberg, под руководством Dr. C. D. Langhans, Dr. V. Peters, Prof. Dr. G. F. Hoffmann.

**Результаты и обсуждение:** Органическими соединениями, которые удалось определить в моче пациентов с помощью ГХ-МС, являлись метаболитами, образовавшимися в результате деятельности микрофлоры кишечника, патогенной микрофлоры (при наличии бактериурии), веществами экзогенного происхождения

(метаболитами лекарственных препаратов, метаболитами пестицидов, результатом специфической диеты и результатом метаболизма определенных токсинов и др.).

Наиболее часто выявлялись метаболиты цикла Кребса и дыхательной цепи, окисления жирных кислот с частотой 1:75 исследований. Умеренные повышения уровня метаболитов окисления жирных кислот в митохондриях встретились с частотой 1:120 исследований. Мы трактовали эти показатели как следствие вторичной митохондриальной дисфункции. Умеренное повышение метилмалоновой кислоты (1:10 исследований) обнаружено у пациентов с дефицитом витамина В12, нарушением функции желудочно – кишечного тракта и дефицитом кобаламина. Повышение метаболитов окисления АК с разветвленной цепью (1:50 исследований) были обусловлены недостаточностью кофакторов метаболических процессов: витаминов В1, В2, В3, В5, биотина, липоевой кислоты, магния.

1. При проведении селективного скрининга были выявлены следующие наследственные болезни обмена (табл. 1):

Таблица 1.

Выявленные наследственные болезни обмена

№ п/п	Наименование заболевания	Выявленные метаболиты	Количество больных
1	Сульфитоксидазы дефицит	Sulfite	1
2	Пропионовая ацидурия	↑↑↑ 3-hydroxypropionic , 2-hydroxyisovaleric, propionylglycine, methylcitric acid	1
3	Метилмалоновая ацидурия	Methylmalonic acid ( ? 500 mmol/mol KREA)	3
4	Изовалериановая ацидурия	Isovalerylglycine, 3-hydroxyisovaleric acid	1
5	Глутаровая ацидурия тип 1	glutaconic, 3-hydroxyglutaric, 2-methylglutaconic, 3-hydroxyisovaleric acid	5
6	Болезнь «кленового сиропа»	2-hydroxyisovaleric ↑↑↑, 3-hydroxyisovaleric, 2-hydroxy-4-methylvaleric acid, N-acetyl-L-isoleucine	2
7	Нарушение обмена карнитина	↑ метаболитов окисления жирных кислот (3-hydroxSebacic, Adipic), ↓ метаболиты цикла Кребса (citric, fumaric) lactic (N, ↓)	1
8	Дефицит орнитинкарбомил-трансферазы	↑ pyrimidines (↑uracil, ↑orotic), ↓ citrulin, ↓ornithine	2
9	Нарушение обмена пиримидинов (урацилдегидропиримидиндегидрогеназы)	↑uracil, ↑thymine	2
10	5-оксипролинемия	↑↑↑ 5-oxoproline ( ? 1000 mmol/mol KREA), нарушение γ-Glutamil cycle	2
11	Недостаточность биотинидазы	↑↑↑ 3-hydroxypropionic, methylmalonic acid, 3-hydroxyisovaleric	5
12	Недостаточность синтетазы холокарбоксилазы	↑↑↑ 3-hydroxypropionic, methylmalonic, 3-hydroxyisovaleric acid ↑↑; изменение: leucine, isoleucine, valine, Lactic; нарушение цикла Кребса	3

**МУЛЬТИФАКТОРІАЛЬНІ ЗАХВОРЮВАННЯ**

Продолжение табл. 1

13	Болезнь Канавана	N-acetyl-L-aspartic (° 200 mmol/mol KREA)	2
14	2-гидроксиглутаровая ацидурия	2-hydroxyglutaric acid	1
15	НБО нейротрансмиттеров	↓ homovanilic, ↓ vanylmandelic acid	2
16	Алкаптонурия	↑↑↑ homogentisic acid	1
17	Тирозинемия II типа	↑ N-acetyl-L-tyrosine, 4-hydroxyphenylpyruvic, 4-hydroxyphenyllactic; ↑ Phenylalanine, 2-hydroxyphenylacetic acid	1
18	Нарушения обмена жирных кислот с длинной углеродной цепью	3-hydroxysebacic, 2-hydroxysebacic, 3-hydroxydodecanedioic; suberic, sebaric acid	4
19	Тирозинемия I тип	↑ N-acetyl-L-tyrosine, 4-hydroxyphenylpyruvic 4-hydroxyphenyllactic acid, succinylacetone	1
20	Недостаточность полуальдегида янтарной кислоты (4-гидроксибутировая ацидурия)	4-hydroxybutyric, glycolic, lactic, 2,4-dihydroxybutyric, 3,4 – dihydroxybutyric acid	2
21	Глицеролемия	Glycerol (° 10000 mmol/mol KREA)	2
22	Синдром ННН	↑ pyrimidines (↑uracil, orotic), ↑ornithine, ↑ homocytuelin	1

Таблица 2.

**Фрагмент протокола исследования органических кислот.**

11.1 Метаболиты АК Фенилаланина (Phe), Тирозина (Tyr)					
2-hydroxyphenylacetic (Phe, Tyr)	8, 13	n.d.		0 - 11	Umol/mmol KREA
p-hydroxyphenylacetic (Phe, Tyr)	8	82.17		0 - 837.9	Umol/mmol KREA
Phenylactic (Phe, Tyr)	14			-	Umol/mmol KREA
Mandelic (Phe, Tyr)	14			-	Umol/mmol KREA
Phenylpyruvic (Phe, Tyr)				-	Umol/mmol KREA
Phenyllactic (Phe, Tyr)				-	Umol/mmol KREA
↓ Sumiki's (5-hydroxymethyl-2-furoic) (Phe)		1.7		0 - 55.12	Umol/mmol KREA
N-acetyltyrosine (Tyr)	15	1.77	↑	n.d.	mmol/mol KREA
4-hydroxyphenylpyruvic (Phe, Tyr)	12, 13, 15	10.40		0 - 28.57	Umol/mmol KREA
Hydroxyphenyllactic (Phe, Tyr)	12, 13, 15	37.62		0 - 167.01	Umol/mmol KREA
Homogentisic (Phe, Tyr)	12, 13	present	↑↑↑	-	Umol/mmol KREA
4-hydroxybenzoic (Phe, Tyr)	8	2.52		15.92 - 273.2	Umol/mmol KREA
p-hydroxyhippuric (Phe, Tyr)	8, 16	5.25		0 - 405.21	Umol/mmol KREA
3-hydroxyhippuric (Phe, Tyr)	8	n.d.		n.d.	Umol/mmol KREA
Hippuric (Phe, Tyr)	8, 9, 16, 16	606.71		0 - 2181.85	Umol/mmol KREA
4 hydroxycyclohexylcarboxylic (Phe, Tyr)	8	n.d.		0 - 2.02	Umol/mmol KREA
4-hydroxycyclohexylacetic (Phe, Tyr)	8			n.d.	Umol/mmol KREA
Fumaric (Phe, Tyr)	1, 7, 12	4.62		1.2 - 25.25	mmol/mol KREA

## МУЛЬТИФАКТОРІАЛЬНІ ЗАХВОРЮВАННЯ

11.2 Метаболиты АК Триптофана (Trp), Лизина (Lis), Гистидина (His), Аргинина (Arg)					
Pimelic (Lys)	4	6.55	↑	0 - 2.77	mmol/mol KREA
Glutaric (Lys, Trp, B2)	12, 14	2325.59	↑↑	0 - 3.62	mmol/mol KREA
5-Hydroxyindoleacetic (Trp)	8, 10	225.64		43.4 - 463.14	Umol/mmol KREA
Indoleacetic (Trp)	8	187.2		0.98 - 225.13	Umol/mmol KREA
Indolelactic (Trp)	8			-	Umol/mmol KREA
Oxoglutaric (His, Arg, Pro)	1, 7, 9, 11, 12, 13, 14	615.92	↑	4.9 - 110.94	Umol/mmol KREA
11.3 Кетоз; метаболиты АК с разветвленной цепью: Лейцина (Leu), Изолейцина (Ile), Валина (Val)					
Тест на кетокилоты при лейцинозе		отр.		отрицательный	-
3-methylglutaric (Leu)		9.56	↑	0 - 0.54	Umol/mmol KREA
3-Methylglutaconic (Leu)		99.21	↑	5.78 - 38.65	Umol/mmol KREA
Isovalerylglucine (Leu)				0 - 4.13	Umol/mmol KREA
3-methylcrotonylglycine (Leu)				-	Umol/mmol KREA
2-Hydroxyisovaleric (Leu)				0 - 11.8	Umol/mmol KREA
3-hydroxyisovaleric (Leu)	12	251.66	↑	5.44 - 59.09	Umol/mmol KREA
3-hydroxymethylglutaric (Leu)	1, 7, 12	26.29	↑	0 - 3.67	Umol/mmol KREA
Hydroxyisobutyric (Ile)		24.22	↑	1.75 - 21.61	Umol/mmol KREA
Erythronilic (Ile)		270.88	↑	0 - 76.19	Umol/mmol KREA
2-Ethylhydracrylic (Ile)		42.13	↑	0 - 12.76	Umol/mmol KREA
Tyglylglycine (Ile)	1, 2			0 - 11.14	Umol/mmol KREA
2-Methylbutyrylglycine (Ile)				-	Umol/mmol KREA
3-Hydroxyisobutyric (Val, тимин)		42	↑	1.26 - 13.73	Umol/mmol KREA
Isobutyrylglycine (Val)				0 - 6.04	Umol/mmol KREA
Succinic (Leu, Ile, Val)	1, 2, 12, 13	20.59		1.28 - 49.7	mmol/mol KREA

Таким образом, у 45 пациентов с подозрением на наследственную болезнь обмена методом ГХ-МС были выявлены РЗ. Кроме того, с помощью этого метода мы выявляли у больных вторичные нарушения обмена, коррекция которых повысила эффективность лечения основного заболевания.

Синдром гиперорнитинемия, гипераммониемия, гомоциструллинурия — встречается редко — в мире описано около 100 пациентов. Заболевание связано с дефектом орнитинтранслоказы и характеризуется высоким уровнем ионов аммония, орнитина в крови и увеличенной почечной экскрецией гомоциструллина. Тип наследования — аутосомно-рецессивный. Ген *ORNT1 mut (T32R)* локализован на длинном плече хромосомы 13, в регионе 13q14; *del F188 mutation in SLC25A15* [5, 6, 7].

Установлено, что недостаточное поступление орнитина внутрь митохондриального матрикса нарушает функционирование цикла синтеза мочевины. Следствие этого — нарушение утилизации азотистых соединений и возникновение гипераммониемии. Отсутствие орнитина активирует трансформацию лизина в

гомоциструллин и приводит к повышению уровня гомоциструллина в крови и моче [8, 9].

Известно, что возраст появления первых признаков широко варьирует: от неонатального периода до 18 лет. Течение приступообразное. Зачастую ранние симптомы не являются специфическими и поэтому их легко можно не распознать. В роли триггеров выступают: инфекция, анестезия, суперстресс, переход на искусственное вскармливание, введение в рацион высокобелковых продуктов.

В раннем детском возрасте симптомы обычно менее острые и более вариабельные, чем в неонатальном периоде. Они включают в себя анорексию, летаргию, рвоту, задержку в психомоторном и речевом развитии, низкорослость. Симптомы возникают эпизодически на фоне «метаболических стрессов».

Приводимый нами пример одного из собственных наблюдений синдрома ННН (гиперорнитинемия — гипераммониемия — гомоциструллинурия) иллюстрирует эффективность ГХ-МС в диагностике ацидурии.

Мальчик С., 4 лет, поступил с жалобами на

частые рвоты, вялость, слабость, нарушение сна, задержку темпов психо-речевого развития.

Ребенок родился от 2-й физиологически протекавшей беременности, I срочных родов в сроке гестации 36 – 38 недель, путем кесарева сечения, показанием для которого была spina bifida occulta поясничного отдела позвоночника L5-S1 у матери. Масса тела при рождении – 4350г., рост – 55 см., закричал сразу. На грудном вскармливании до 2-х месяцев. Голову держит с 2-3 месяцев, начал сидеть с 6.5 месяцев, ходит с 10 месяцев. Психомоторное развитие на 1-ом году жизни соответствовало возрасту. С 1,5 лет – задержка речевого развития, двигательная гиперактивность, низкая концентрация внимания. В 2 года 7 месяцев перенес инфекционный мононуклеоз, аденоидит, лечился в инфекционной больнице. Развитие ребенка в неонатальном периоде представлялось нормальным, лишь иногда отказывался от еды. По данным N.Blau et al. [3] в неонатальном периоде дети с синдромом ННН кажутся нормальными, но вскоре они отказываются от еды, появляется тошнота, рвота, общая гипотония и неврологические, вегетативные нарушения, включая вазомоторную нестабильность, приступы апноэ и кому [3]. Эта особенность манифестации была отмечена и в нашем наблюдении.

Мать считает ребенка больным с 3 лет, когда после ушибленной раны и наложения швов под общим обезболиванием, постепенно развивалась задержка психомоторного развития, наметилось отставание в росте, появилась анорексия, рвота, вялость, длительный сон. Мать отметила, что провоцирующим фактором появления рвоты было употребление в пищу сыра, к которому у ребенка было пристрастие.

Обследован у гастроэнтеролога: выявлена дискинезия желчевыводящих путей, панкреатопатия. После временного улучшения, прогрессировало развитие флюктуирующего уровня сознания с очаговыми неврологическими симптомами, возникли трудности в обучении. В неврологическом статусе выявлено повышение сухожильных рефлексов, рефлекса Бабинского, клонус стоп, спастический парапарез, атаксия, хореоатетоз, симптоматическая эпилепсия. В межприступном периоде неврологическая симптоматика исчезала почти полностью. Развивалась гепатоспленомегалия.

Консультирован неврологом, психиатром, которые установили минимальную мозговую дисфункцию, синдром задержки темпов речевого и психомоторного развития, легкий вестибуло-атактический синдром, гиперактивность с дефицитом внимания и ликворо-венозная дистензия. Дисметаболическое состояние неясного генеза.

В 3 года 9 мес. впервые консультирован генетиком. При базисном обследовании

обнаружены: гипергомоцистеинемия, полиморфизм MTRR 66AG, MTR 2756AG. Назначена коррекция гипергомоцистеинемии бетаином, витаминами B<sub>6</sub> и B<sub>12</sub> в течение 2-х недель. Состояние ребенка сразу же улучшилось. Уровень гомоцистеина нормализовался. Матери предложено дальнейшее обследование, направленное на поиск биохимической «мишени» заболевания, т.к. очевидным был факт наличия у ребенка наследственной болезни обмена. Однако семья рекомендованного обследования не проводила, а через 2 месяца, после перенесенного тяжелого бронхита мать отметила ухудшение состояния ребенка, появление гиперактивности, агрессии, которые сменялись вялостью, рвотой и возвратилась к необходимости продолжать обследование.

При обследовании в медико-генетическом центре было обнаружено повышение активности трансаминаз, щелочной фосфотазы, при нормальном уровне гаммаглутамилтранспептидазы, повышенный уровень аммиака 260,99 мкмоль/л (норма 18-72 мкмоль/л). Ребенок госпитализирован в многопрофильный областной стационар в связи с выявленной гипераммонемией, нарушением поведения, где проводилась дифференциальная диагностика с гепатитами и болезнью Вильсона – Коновалова, нарушением обмена серосодержащих аминокислот.

При обследовании: функциональные пробы печени – цитолиз до 7 (N); медь сыворотки крови – 20,5 мкмоль/л (N 10 – 18), медь мочи – 1,17 мкмоль/л (N 0,03 – 1,26), церулоплазмин крови – 219,6 мг/л (N 180 – 450).

Установлены нарушение форм поведения, синдром дефицита внимания с гиперактивностью. Исключены гепатиты, болезнь Вильсона-Коновалова. Рекомендовано ограничение белка до 1,2 г. на кг, пантогам, бетаргин, карнитин. Ребенок выписан домой с улучшением.

Спустя 3-и месяца на фоне назначенной педиатрами терапии появились повторные ежедневные рвоты до 7 раз в сутки в вечернее и ночное время, нарастание гиперактивности, сменяющееся вялостью, сонливостью, шаткостью походки, промахивание при попытке взять предмет, эпизоды спутанности сознания. Лишь при появлении указанных симптомов мать снова обратилась в ХСМГЦ. Срочно исследован уровень аммиака, отмечено повышение до 391,49 мкмоль/л (N 18-72 мкмоль/л). Ребенок представлен на международный консилуим в составе директора Украинского института клинической генетики, профессора Гречаниной Е.Я. и профессора кафедры педиатрии университета Галвестон (США), Почетного профессора Харьковского Национального медицинского университета Маталона Р. Учитывая вышеизложенные жалобы,



данние анамнеза, клиничко-генеалогического анализа, данные соматического и неврологического статусов, дополнительных методов обследования (повышение уровня аммиака в крови – от 391,49 до 89,44 мкмоль/л (норма 18-72 мкмоль/л), гиперорнитинемия 1,373 мг (N 0,345-1,008), гиперцитруллинурию 737,18 ммоль/моль KREA), а также отсутствие эффекта от проводимого ранее лечение, установлен диагноз: Синдром ННН (гипераммониемии, гиперорнитинемии, гомоцитруллинурии). Полиморфизм генов фолатного цикла (гетерозиготный компаунд MTRR 66AG/MTR 2756AG). Гипергомоцистеинемия.

Состояние ребёнка на фоне лечения стабилизировалось. Но через короткое время вновь возобновилось прогрессирующее течение.

В статусе нараста сонливость, атаксия, гиперсаливация, ухудшился аппетит, снова появилась выраженная агрессия, судорожные подергивания, появилась утрата приобретенных навыков. Это эпизод также был связан с перенесенным респираторным заболеванием.

При проведении дополнительных обследований выявлено:

- УЗИ внутренних органов: печень увеличена до +4 см., диффузные изменения паренхимы, высокая эхогенность, венозный рисунок не изменен, отек стенки желчного пузыря, селезенка повышенной эхогенности, вены в воротах извиты, селезеночная вена – 6-7 мм, почки – отек и ишемия паренхимы, справа умеренная пиелоэктазия.

- ЭЭГ: признаки снижения уровня биоэлектрической активности во всех отведениях. Пароксизмальная активность в виде низкоамплитудных диффузных острых волн на фоне дисфункции нижнестволовых структур.

- Эхоэг: Мэход = Мэхос = 67 мм. Ширина Мэхо 6,0. Смещения не выявлено. Признаки ликворной гипертензии.

- Ультразвуковая доплерография сосудов головного мозга: регионарная ангиодистония в средней мозговой артерии, передняя мозговая артерия с увеличением скорости кровотока и вазоспастическими реакциями.

- ЯМРТ головного мозга: определяется симметричное поражение в виде отека корково-субкортикальных отделов лобных, височных и теменных долей (гипоксического либо дисметаболического генеза), без масс – эффекта. Желудочковая система не изменена, боковые желудочки D>S, отток ликвора из желудочков сохранен. Срединные структуры не смещены. Кора гемисфер вне зоны описанных поражений не изменена. Субарахноидальные пространства без особенностей. Расширена до 1,11 см ретроцеребеллярная цистерна (арахноидальная киста) с гипоплазией червя мозжечка.

Ребенок консультирован нейрохирургом – по

данным МРТ головного мозга обнаружены зоны корковых ишемий обеих гемисфер в бассейне средней мозговой артерии.

- Агрегация тромбоцитов: при концентрации АДФ 0,625 мкмоль/л наблюдается одноволновая агрегация с дезагрегацией. При концентрации АДФ 1,25 мкмоль/л и 2,5 мкмоль/л отмечается вторая волна агрегации с частичной дезагрегацией. При концентрации АДФ 5,0 мкмоль/л наблюдается одноволновая агрегация с частичной дезагрегацией.

Таблица 3.

**Показатели системы свертывания**

№ п/п	Метаболиты	Результат	Референтные значения
1	АЧТВ (активированное частичное тромбопластиновое время)	49,4 с.	30,5-38,5
2	Международное нормализованное соотношение (INR)	1,77	0,8-1,3
3	протромбиновое время	24,7 с	10,5-15,8

- Лактат крови 0,97 ммоль/л (N 0,2-2,2).

Таблица 4.

**Анализ аминокислот сыворотки крови**

№ п/п	Метаболиты	Результат	Референтные значения
1	Лизин	1,608 мг ↓	1,825-3,106
2	Треонин	0,397 мг ↓	0,89-1,483
3	Глицин	0,824 мг	1,106-2,12
4	Аланин	1,034 мг ↓	2,163-3,922
5	Валин	0,965 мг	2,065-2,95
6	Изолейцин	0,149 мг ↓	0,484-0,936
7	Лейцин	0,616 мг ↓	1,275-2,009
8	Фенилаланин	0,513 мг ↓	0,750-1,442
9	Орнитин	1,373 мг ↑	0,345-1,008
10	Метионин	0,511 мг ↑	0,167-0,400
11	Аммиак	1,634 мг ↑	0,382-1,147

Таблиця 5.

Биохимический профиль

№ п/п	Метаболиты	Результат	Референтные значения
1	АСТ	46,48 Ед/л↑	0-36
2	АЛТ	69,17 Ед/л↑	0-29
3	Креатинкиназа	155,91 Ед/л↑	0-149

- Мочевая кислота 1,22 Ед/л (N 1,68-3,84).
- Гомоцистеин крови – 5,1 (норма 4,3).

При повторной газовой хроматографии мочи, органических аминокислот выявлены: значительные повышения урацила, цитрулина, изменение метаболитов пиримидинов, цикла Кребса.

Ребенок получал терапию: диета с ограничением белка (использовалась специальная смесь «Renilon», фирмы Нутриция); антибактериальная терапия (цефтриаксон, амицил, меронем, ванкомиц); иммуномодулирующая терапия (биовен моно); патогенетическая терапия с использованием гепа-мерца, бетаргина, глутаргина, рибофлавина, цитофлавина, пиридоксина, цианокобаламина, тивортина; терапия отека-набухания головного мозга (L-лизина эсцинат, магния сульфат); препараты для улучшения метаболических процессов головного мозга (мексидол, цераксон); дезинтоксикационная терапия; поддержание коллоидно-онкотического давления плазмы; стабилизация клеточных мембран; коррекция дизэлектролитных нарушений; улучшение реологических свойств крови; профилактика стрессовых язв (гастроцепин); борьба с ДВС синдромом; обеспечение инотропной поддержки миокарда.

На третьи сутки с момента поступления в стационар отмечалось нарастание патологической неврологической симптоматики: появился правосторонний гемипарез, псевдобульбарный синдром, эпизоды сомнолентности. Проводилась терапия отека-набухания головного мозга, улучшение церебральной гемодинамики, реологических свойств крови, коррекция электролитных и дизметаболических нарушений. Данные повторных ЭЭГ, ЯМРТ свидетельствуют о прогрессировании патологического процесса: на ЭЭГ отмечается появление очага медленных высокоамплитудных волн в отведениях правой гемисферы и очаг выраженного снижения биоэлектрической активности и функциональной

активности в отведениях левой гемисферы. Грубая медиобазальная дисфункция; при ЯМРТ головного мозга определялась обширная зона поражения в виде отека корковосубкортикальных отделов лобной, височной, теменной и затылочной долей слева (с вовлечением базальных отделов лобной и височной долей), а также поражение корковосубкортикальных отделов лобной и височной долей справа в проекции Сильвиевой щели. Описанное поражение без четких контуров, в виде диффузного отека. Определяется увеличение зоны поражения левой гемисферы и нарастание масс-эффекта – левый боковой желудочек сдавлен, срединные структуры смещены вправо до 5 мм, правый желудочек умеренно расширен. Внутренний ликвороток сохранен. Генетиками заподозрена тотальная церебральная окклюзия.

Наблюдение за ребенком в динамике, периоды лихорадки, прогрессирующие изменения со стороны ЦНС, наличие бульбарных расстройств потребовали проводить дифференциальный диагноз с вирусным энцефалитом. Ребенок консультирован нейроинфекционистом: наличие энцефалита мало вероятно.

При повторных исследованиях отмечалось нарастание уровня аммиака – 460,9 мкмоль/л, 820,57 мкмоль/л, 1000,14 мкмоль/л (норма 18-72 мкмоль/л).

Несмотря на проводимую терапию, состояние ребенка ухудшилось: больной недоступен речевому контакту, в ответ на болевые раздражители — хаотичные движения в конечностях, взгляд не фиксирует, анизокория, гортанно-глоточные рефлексы снижены, дыхание не глубокое. Учитывая быстрое прогрессирование церебральной недостаточности, угнетение стволовых рефлексов, ребенок интубирован, переведен на искусственную вентиляцию легких. Проводились консультации в режиме реального времени с участием республиканского детского невролога, республиканского анестезиолога, токсиколога, генетика университетского центра (Амстердам). Постоянное наблюдение профессора Е.Я. Гречаниной и профессора Р.Маталона (последний – в режиме on-line). Крайняя тяжесть состояния больного расценивалась как результат прогрессирования метаболической энцефалопатии с развитием мозговой комы III на фоне Синдрома ННН (гипераммониемии, гиперорнитинемии, гомоцитруллинурии). Вместе с тем выявлены признаки недостаточности кобаламина, выраженная анемия, гипергомоцистеинемия, признаки тромбофилии на фоне генетического компаунда полиморфизма MTRR 66 AG/MTR 2756 AG. Это обстоятельство наводило на мысль о возможности изменения функции нейтральных аллелей MTRR и MTR на «аллель риска» и затем клинически значимый аллель под повторяющимся воздействием триггера,

каковим явилась рецидивуюча інфекція. Ету думку підтримувала також і позитивна реакція пацієнта в одвіт на кратковременную коррекцію гіпергомоцистеїнемії с помощью фолатної терапії і наличие спинномозгової грыжі у матери. Поскольку не было проведено исследование активности указанных ферментов, это предположение не было доказано. Однако мы продолжаем поиск указанного механизма, изменяющего клинические проявления, при других редких заболеваниях, ассоциированных с различными вариантами недостаточности кобаламина при наличии соответствующих полиморфизмов.

Клинический диагноз был сформулирован следующим образом: нарушение обмена орнитина – синдром ННН (гипераммониемия, гиперорнитинемия, гомоциструлинурия). Полиморфизм MTRR 66 AG / MTR 2756 AG. Гипергомоцистеїнемія. Метаболічна енцефалопатія. Мозгова кома ІІІ ст.

Несмотря на обеспечение диеты с ограничением белка (смесь «Renilon», фирмы Нутриция), этиотропную, патогенетическую, симптоматическую терапию состояние больного прогрессивно ухудшалось, развивался синдром полиорганной недостаточности (церебральной, дыхательной, сердечно-сосудистой, острая почечная недостаточность), наступила асистолия. Ребенку проведены реанимационные мероприятия в полном объеме, однако эффекта не было достигнуто, зарегистрирована биологическая смерть на 28 сутки после госпитализации и 38 сутки от момента установления диагноза

синдрома ННН.

*Патологоанатомический диагноз:* врожденное нарушение обмена веществ: синдром ННН (гипераммониемия, гиперорнитинемия, гомоциструлинурия).

*Осложнения:* тромбгеморрагический синдром с массивным прогрессирующим тромбозом синусов твердой мозговой оболочки, сосудов мягких мозговых оболочек, внутримозговых сосудов. Тотальная энцефаломалиция. Данная находка еще раз заставила нас обратить внимание на возможную роль тромбофилии, ассоциированной с найденными полиморфизмами в развертывании тяжелой клинической картины.

**Заключение:** Проведенное исследование демонстрирует высокую эффективность ГХ/МС в уточняющей диагностике НБО при условии сочетания классических методов клинической генетики (детальная информация об истории заболевания и жизни семьи, анализ родословной, качественное сомато-генетическое исследование с синдромологическим анализом) с современными высокотехнологичными методами.

Для однозначного прогнозирования потомства в данной семье проводится преконцепционная профилактика и молекулярно-генетическое исследование мутаций, ассоциированных с ННН – синдромом.

Авторы статьи выражают огромную признательность Марии Тец – менеджеру компании «Нутриция» и искренне благодарят за помощь в приобретении смеси «Renilon».

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ:

1. Goodman, S.I. and Markey S.P. Diagnosis Of Organic Acidemias By GC-MS, Alan.R.Liss, 1981.
2. Metabolic medicine: new developments in diagnosis and treatment of inborn errors of metabolism/ Hoffmann J., Lindner M., Shahbek N., Barić I., Al Thani, Hoffmann G.// World J. Pediatr., Vol 2 No 3. – 2006. – P.169-176.
3. Physician's guide to the laboratory diagnosis of metabolic diseases/Ed. by N. Blau, M.Duran, M.E.Blaskovics, K.M.Gibsson –Germany: Springer, 2003.-688p.
4. Organic acids in man/R.A. Chalmers, A.M. Lawson – UK, 1982, p. 52.
5. Camacho J.A., Mardach R., Rioseco-Camacho N., Ruiz-Pesini E., Derbeneva O., Andrade D., Zaldivar F., Qu Y., Cederbaum S.D. Clinical and functional characterization of a human ORNT1 mutation (T32R) in the hyperornithinemia-hyperammonemia-homocitrullinuria (HHH) syndrome. *Pediatr. Res.* 60: 423-429, 2006. [PubMed: 16940241, related citations] [Full Text: Lippincott Williams & Wilkins].
6. Camacho J.A., Rioseco-Camacho N. The human and mouse SLC25A29 mitochondrial transporters rescue the deficient ornithine metabolism in fibroblasts of patients with the hyperornithinemia-hyperammonemia-homocitrullinuria (HHH) syndrome. *Pediatr. Res.* 66: 35-41, 2009. [PubMed: 19287344, related citations] [Full Text: Nature Publishing Group].
7. Debray F.-G., Lambert M., Lemieux B., Soucy J. F., Drouin R., Fenyves D., Dube J., Maranda B., Laframboise R., Mitchell G. A. Phenotypic variability among patients with hyperornithinaemia-hyperammonaemia-homocitrullinuria syndrome homozygous for the delF188 mutation in SLC25A15. *J. Med. Genet.* 45: 759-764, 2008. [PubMed: 18978333, related citations] [Full Text: HighWire Press].

8. Al-Hassnan Z.N., Rashed M.S., Al-Dirbashi O.Y., Patay Z., Rahbeeni Z., Abu-Amero K.K. Hyperornithinemia-hyperammonemia-homocitrullinuria syndrome with stroke-like imaging presentation: clinical, biochemical and molecular analysis. *J Neurol Sci.* 2008;264:187–94. [PubMed].
9. Mhanni A.A., Chan A., Collison M., Seifert B., Lehotay D.C., Sokoro A., Huynh H.Q., Greenberg C.R. Hyperornithinemia-hyperammonemia-homocitrullinuria syndrome (HHH) presenting with acute fulminant hepatic failure. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2008;46:312–5. [PubMed].

*О.Я. Гречанина, О.П. Здибська, Л.В. Молодан, Ю.Б. Гречанина, М.В. Канюка, Г.С. Сенаторова*

**ЕФЕКТИВНІСТЬ УТОЧНЮЮЧОЇ ДІАГНОСТИКИ СПАДКОВИХ ХВОРОБ ОБМІНУ З ВИКОРИСТАННЯМ ГАЗОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ / МАСС-СПЕКТРОМЕТРІЇ НА ПРИКЛАДІ СИНДРОМУ ННН**

**Резюме.** В процесі уточнюючої діагностики спадкових хвороб обміну ми використовуємо, в тому числі, газову хроматографію / мас-спектрометрію. Діагностична значимість цього методу виявилася високою. На прикладі ННН синдрому з гіперорнітинемією-гіпераммоніемією – гомоцитрулінурією показана необхідність використання цього методу у всіх випадках появи епізодів гіпераммонемії, виникнення ознак захворювання в ранньому дитячому віці, приступообразного їх характеру на фоні дії тригерів (інфекції).

**Ключові слова:** синдром ННН; гіперорнітинемія; гіпераммоніемія; гомоцитрулінурія; газова хроматографія / мас-спектрометрія; орфанні захворювання; тромбофілія.

*О.Я. Grechanina, O.P. Zdybska, L.V. Molodan, Yu.B. Grechanina, M.V. Kanyuka, A.S. Senatorova*

**EFFICIENCY OF DIAGNOSIS OF HEREDITARY METABOLIC DISEASES USING GAS CHROMATOGRAPHY / MASS SPECTROMETRY FROM EXAMPLE HHH SYNDROME**

**Abstract.** In the process of specifying diagnosis of hereditary metabolic diseases, among others, we use gas chromatography / mass spectrometry. Diagnostic significance of this method was high. On the example of HHH syndrome with hyperornithinemia – hyperammonemia – homocitrullinuria shows the need to use this method in all cases with of episodes of hyperammonemia, there are indications of the disease in the early childhood on the background of triggers (infection).

**Keywords:** HHH syndrome; hyperornithinemia; hyperammonemia; homocitrullinuria; gas chromatography / mass — spectrometry; rare diseases; thrombophilia.

Надійшло до редакції 01.10.2018р.

Підписано до друку 28.11.2018р.

Ю.Б. Гречанина<sup>1</sup>, А.А. Майстренко<sup>2</sup>, С.В. Лесняк<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Харківський національний медичинський університет, Харків, Україна

<sup>2</sup> Харківський міжобластний спеціалізований медико-генетичний Центр – Центр рідких (орфанних) захворювань, Харків, Україна

## КЛИНИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ОРФАННОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ – БОЛЕЗНЬ КАНАВАНА. ПУТИ ЭФФЕКТИВНОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ

**Резюме.** В статье описаны примеры клинического полиморфизма наследственного метаболического заболевания – болезни Канавана; представлены 4 случая заболевания с различными сопутствующими неспецифическим обменными нарушениями, коррекция которых дала возможность улучшить качество жизни пациентов.

**Ключевые слова:** болезнь Канавана; клинический полиморфизм; метаболизм.

### Вступлення

Болезнь Канавана ван Богарта-Бертра (спонгиозная младенческая дегенерация, спонгиозная дегенерация белого вещества мозга, болезнь Кэнэвэн ван Богарта-Бертра, губчатая дегенерация ЦНС) – относится к группе лейкодистрофий (прогрессирующим наследственным нейродегенеративным заболеваниям) с аутосомно-рецессивным типом наследования. Как и все заболевания данной группы, клинически отмечается тяжелое, прогрессирующее течение за счёт, в первую очередь, выраженной неврологической симптоматики. Болезнь Канавана была описана Миртелем Канаваном в 1931 году [1, 3-5, 13]. А в 1991 году Рубеном Маталоном был выделен ген, отвечающий за это заболевание. Спустя несколько лет разработана и внедрена пренатальная диагностика патологии [6, 9, 14]. Болезнь встречается у людей любой национальности, однако частота выше в популяции евреев ашкенази (каждый 40 представитель является носителем патологического гена) [2].

Заболевание обусловлено мутацией гена ASPA, который локализован на коротком плече 17 хромосомы (локус 17p13.2) и отвечает за синтез аспартоацилазы – этот фермент обеспечивает расщепление N-ацетиласпартата, который синтезируется митохондриями нейронов и содержится в тканях мозга в большом количестве.

В настоящее время известно около 12 мутаций данного гена, которые встречаются с различной частотой. Чаще всего встречаются точечные мутации, при которых происходит замена одних нуклеотидов другими [16, 17]. Для представителей популяции евреев ашкенази характерны мутации p.Glu285Ala и p.Tyr231X, у представителей европейских наций часто наблюдается самая древняя мутация гена ASPA – p.Ala305Glu. Частичная утрата (делеция) экзонов и нуклеотидов и сплайсинговые мутации встречаются относительно редко [10, 15].

Основные проявления затрагивают нервную систему: прогрессирующая задержка психомоторного развития, гидроцефальный и судорожный синдром, симптомокомплекс вялого ребенка. Также при поражении черепно-мозговых нервов возможна слепота, глухота, нарушение акта глотания. Заболевание диагностируется при наличии клинических проявлений, повышении уровне N-ацетиласпартата в моче. Подтверждающей диагностикой является молекулярное исследование гена ASPA [7, 8, 11].

В зависимости от типа мутации болезнь Канавана подразделяется на несколько форм:

- типичная форма, для которой характерна классическая картина заболевания;
- атипичная форма, при которой увеличивается продолжительность жизни, отсутствуют грубые двигательные нарушения и тяжелая задержка развития; возникает при наличии компаунд-гетерозиготности (на гомологичных хромосомах присутствуют в одном и том же локусе 2 разных мутантных аллеля).

Поскольку начало заболевания наблюдается в различных возрастных периодах, также клинически выделяют:

- неонатальная форма ( манифестация с 1-го месяца жизни)
- инфантильная форма, которая является самой распространенной (дебют приходится на 3-5 месяцев жизни)
- поздняя форма.

В настоящее время нет эффективной терапии болезни Канавана. Описаны лишь методики, которые могут «замедлять» течение заболевания, но не излечивать. В США используется подбор терапевтических средств, таких как цитрат лития, ацетат кальция, сукцинат натрия [12]. В настоящее время внедрена генная терапия (апробирована и внедрена в штате Нью-Джерси (США)). Её принцип заключается в клонировании и внедре-

нии в организм здорового гена с помощью непатогенных адено-ассоциированных вирусов, которые в растворе вводятся в головной мозг.

Исследуется и эффективность заместительной терапии, при которой N-ацетиласпартат замещается глицерилацетатом. При использовании данного метода лечения наблюдаются:

- появление новых моторных навыков;
- увеличение количества галактоцереброзидов;
- уменьшение в белом веществе ЦНС спонгиозной вакуолизации.

Данное исследование продолжается, поскольку необходимо выяснить переносимость и безопасность такой заместительной терапии, адекватную дозировку и способ введения препарата.

**Целью** нашего исследования явилось изучение клинического полиморфизма болезни Канавана, поиски путей эффективной метаболической реабилитации.

**Материалы и методы**

За последние 8 лет в ХМСМГЦ-ЦР(О)З за-

регистрировано 4 первично выявленных случая болезни Канавана у детей: в 2010 г. – 2 случая, в 2012 г. – 1 случай, в 2017 г. – 1 случай.

В настоящее время в Центре состоят на диспансерном учете 5 детей с подтвержденным диагнозом болезни Канавана. Несмотря на схожесть клинической симптоматики в плане тяжести заболевания, выраженных проявлений демиелинизации при проведении ЯМРТ головного мозга, быстрое прогрессирование, имелись и различия, прежде всего, это нарушения мышечного тонуса – отмечалась как гипотония, так и гипертония, а также дистония. Эпиприступы отмечались у всех пациентов. Фенотипически у всех пациентов определялись клинические проявления соединительнотканной дисплазии (гиперэластичность кожных покровов, голубые склеры, гипермобильность суставов, выраженная подкожная венозная сеть), гидроцефальный синдром (табл.1). При обследовании были использованы как методы классической генетики, так и современные биохимические и молекулярно-генетические методы.

Таблица 1

Клинический полиморфизм болезни Канавана у пациентов, состоящих на диспансерном учете в ХМСМГЦ — ЦР(О)З

	Ч., ж	К., ж	П., м	К., м	К., м
Задержка психо-речевого	+	+	+	+	+
ЗФР	+	+	+	+	+
Эписиндром	+	+	+	+	+
Гипотония	+	+	+		
Гипертонус				+	+
Рвота	+		+		
Гомоцистеин (μmol/l)	7.99	6.0	7.8	10.59é	9.50
Витамин В12 (pg/ml)	195.0	328		1104é	320
Фолиевая кислота (ng/ml)	19.0é	16.2	20.8	3.7é	19.16é
Гомоцистеин (μmol/l)	7.99	6.0	7.8	10.59é	11.19é
Магний (mmol/l)	1.05é	1.02	0.96é	1.05é	1.04é
Натрий (mmol/l)	124é	137.6	142	141	147é
Калий (mmol/l)	4.9	6.4é	4.20	5.0é	6.33 é
Кальций (mmol/l)	2.75	2.80é	2.68	2.35	2.746é
Кальций ион.		1.28é		1.35é	1.36é
Фосфор (mmol/l)	1.82	2.32é	2.16	1.90é	2.04é
Хлориды (mmol/l)	107.83é	111é	108é	108é	116é
Цинк (μmol/l)	16.3	1086 мкг\л		8.60é	18.90é
Медь (μmol/l)	22.64	1429.0 мкг\л		19.2	18.7
Железо (μmol/l)	6.8	19.2é	8.27	4.5é	7.4é
Ферритин				11.70é	16.86é
АЛТ (Ед/л)		76é	36.0	33é	79é
АСТ (Ед/л)		111é	39.0	52é	67é
Альфа-амилаза (Ед/л)		13.0	23.0é		
Креатинин		28.0	38.80é	44	37

	Ч., ж	К., ж	П., м	К., м	К., м
Щелочная фосфатаза (Ед/л)		358é	710é	137.0	181.6
Общий белок (g/l)		57			
Холестерин (mmol/l)		2.79	4.39	3.45	3.94
Триглицериды (mmol/l)			1.01	1.53é	2.16é
Коэффициент атерогенности				3.3é	4.3é
С-реактивный белок мг/л		8.0é			
Глюкоза (mmol/l)		4.8	5.9é	4.34	4.45
25-ОН-Витамин D (ng/ml)	89.55	28.08é		14.9é	4é
Витамин А		0.36		0.33	0.46é
Витамин Е		2.83		6.5	8.4
Витамин С		8.3		7.2	12.5
Триптофан (mmol/l)				é	
Серин(mmol/l)					é
CMV Ig G		+			
anti-RubellaIgG		+			
Вирус ТТ (ТТV)	+				
Вирус гепатита С (HCV)	+				
N-ацетил-L-аспарагиновая кислота	é	é		é	é
ЛДГ		645é	311.0		
Лактазная недостаточность	С/Т				
Инсулин (мкМЕ/мл)		2.30			
Литий (mmol/l)		é	0.02é		
Серотонин (нг/мл)		410.57é	316.3é		

Так как нашей задачей была оценка особенностей клинического полиморфизма и поиск путей возможной биохимической коррекции метаболического фона, на основании проведенного полного биохимического исследования была назначена индивидуальная терапия, которая позволила нормализовать значимые показатели обмена, что отразилось на более благоприятном течении заболевания. Практически у всех детей уменьшились судорожные проявления, улучшился тонус, улучшились когнитивные функции.

#### Выводы

Таким образом, представленные данные позволяют прийти к заключению, что при любом моногенном заболевании необходимо проведение поиска путей биохимической коррекции, что помогает улучшить качество жизни пациента и течение основного заболевания.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Banker b. Q., Robertson j. T., Victor m. Spongy degeneration of the central nervous system in infancy // Neurology. — 1964. — Vol.14. — P.981—1001. — PMID 14239091.
2. Feigenbaum A., Moore R., Clarke J., Hewson S., Chitayat D., Ray P. N., Stockley T.L. Canavan disease: carrier-frequency determination in the Ashkenazi Jewish population and development of a novel molecular diagnostic assay. (англ.) // American journal of medical genetics. Part A. — 2004. — Vol. 124A, no. 2. — P. 142—147. — DOI:10.1002/ajmg.a.20334. — PMID 14699612.
3. Van Passel-Clark L, Pearl PL. Leukodystrophy (Canavan Disease). *NORD Guide to Rare Disorders*. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2003: 550-1.
4. Rowland LP. Ed. *Merritt's Neurology*. 10th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2000:555-6.
5. Janson CG, McPhee SW, Francis J, et al., Natural history of Canavan disease revealed by proton magnetic resonance spectroscopy (1H-MRS) and diffusion-weighted MRI. *Neuropediatrics*. 2006; 37:209-21.
6. Surendran S, Michals-Matalon K, Quast MJ, et al. Canavan disease: a monogenic trait with complex genomic interaction. *Mol Genet Metab*. 2003; 80:74-80.
7. Olsen TR, Tranebjaerg L, Kvittingen EA, et al., Two novel aspartoacylase gene (ASPA) missense

- mutations specific to Norwegian and Swedish patients with Canavan disease. *J Med Genet.* 2002; 39:55-8.
8. Janson C, McPhee S, Bilaniuk L, et al. Clinical protocol. Gene therapy of Canavan disease: AAV-2 vector for neurosurgical delivery of aspartoacylase gene (ASPA) to the human brain. *Hum Gene Ther.* 2002;20:1391-412.
  9. Matalon R, Matalon KM. Canavan disease prenatal diagnosis and genetic counseling. *ObstetGynecolClin North Am.* 2002;29:297-304.
  10. Sugarman EA Allitto BA. Carrier testing for seven diseases common in the ashkenazijewish population: implications for counseling and testing. *Obstet Gynecol.* 2001;97:S38-S39.
  11. Gordon N. Canavan disease: a review of recent developments *Eur J Paediatr Neurol.* 2001;5:65-69.
  12. Leone P, Janson CG, Bilaniuk L, et al. Aspartoacylase gene transfer to the mammalian central nervous system with therapeutic implications for Canavan disease. *Ann Neurol.* 2000;48-9-10.
  13. Traeger EC, Rapin I. The clinical course of Canavan disease. *Pediatr Neurol.* 1998;18:207-12.
  14. Matalon R. Canavan disease: diagnosis and molecular analysis. *Genet Test.* 1997;1:21-25.
  15. Kaul R, Gao GP, Balamurugan K, et al. Spectrum of Canavan mutations among Jewish and non-Jewish patients. *Am J Hum Genet.* 1994;55:A212.
  16. National Institute of Neurological Disorders and Stoke. NINDS Canavan Disease Information Page. <http://www.ninds.nih.gov/disorders/canavan/canavan.htm> Last Updated June 13, 2013. Accessed May 12, 2015.
  17. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). The Johns Hopkins University. Canavan Disease. Entry No: 271900. Last Edited May 13, 2008. Available at: <http://omim.org/entry/271900> Accessed May 12, 2015.

*Ю.Б. Гречанина, А.А. Майстренко, С.В. Лісняк*

**КЛІНІЧНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ОРФАННОГО ЗАХВОРЮВАННЯ – ХВОРОБА  
КАНАВАНА.  
ШЛЯХИ ЕФЕКТИВНОЇ РЕАБІЛІТАЦІЇ**

**Резюме**

У статті описані приклади клінічного поліморфізму спадкового метаболічного захворювання – хвороби Канавана; представлені 4 випадки захворювання з різними супутніми неспецифічним обмінними порушеннями, корекція яких дала можливість поліпшити якість життя пацієнтів.

**Ключові слова:** хвороба Канавана; клінічний поліморфізм; метаболізм.

*Yu.B. Grechanina, A.A. Maystrenko, S.V. Lisniak*

**CLINICAL POLYMORPHISM OF ORPHAN DISEASES –  
DISEASE OF CANAVAN.  
WAYS OF EFFICIENT REHABILITATION**

**Summary**

The article describes examples of clinical polymorphism of a hereditary metabolic disease – Canavan disease; 4 cases of the disease with various concomitant nonspecific metabolic disorders are presented, the correction of which made it possible to improve the quality of life of patients.

**Key words:** Canavan's disease; clinical polymorphism; metabolism.

Надійшло до редакції 01.10.2018р.

Підписано до друку 22.11.2018р.



О. Я. Гречаніна, О. В. Бугайова

Харківський національний медичний університет, кафедра медичної генетики,  
Харківський міжобласний спеціалізований медико-генетичний центр – центр рідкісних (орфанних)  
захворювань

## РАРИТЕТНІ КОНГЛОМЕРАТИ ХВОРОБ СЕРЕД ПОРУШЕНЬ ОБМІНУ ГЛІКОЗАМІНОГЛІКАНІВ

**Резюме.** У статті Гречаніної О.Я., Бугайової О.В. «Раритетні конгломерати хвороб серед порушень обміну глікозаміногліканів» представлений клінічний поліморфізм різноманітних варіантів порушень обміну глікозаміногліканів, феномен фено – і генотипічної синтропії, методи діагностики лізосомних хвороб накопичення.

**Ключові слова:** раритетні хвороби; порушення обміну; хвороби накопичення; сполучна тканина; мукополісахаридози.

**Вступ.** Серед хвороб накопичення мукополісахаридози займають одне з перших місць. Патологія обумовлена недостатністю лізосомальних ферментів, яка призводить до порушення катаболізму основної речовини сполучної тканини – глікозаміногліканів [2]. Їх накопичення в лізосомах викликає грубі клітинні зміни і виникнення характерної клінічної картини [4]. Залежно від ферментативних дефектів і тяжкості клінічної симптоматики розрізняють сім типів мукополісахаридозів, серед яких існують кілька підтипів [1-6].

**Мета нашого дослідження** – вивчити клінічний поліморфізм різноманітних варіантів порушень обміну глікозаміногліканів, уточнити можливість феномену фено – і генотипічної синтропії для індивідуалізації реабілітації.

**Матеріали і методи дослідження.** Дослідження проведено на клінічній базі кафедри медичної генетики Харківського національного медичного університету – Харківському міжобласному спеціалізованому медико-генетичному центрі – центрі рідкісних (орфанних) захворювань. Використано багатопараметричне клініко-генетичне дослідження із застосуванням клініко-генеалогічного, соматогенетичного, біохімічного, цитогенетичного, молекулярно-генетичного, інструментальних та інших методів дослідження (високоєфективна рідинна хроматографія амінокислот, газова хроматографія, мас-спектрометрія, тандемна масспектрометрія).

**Результати та їх обговорення.** Серед 52077 первинно обстежених пацієнтів виявлено 263 (0,5%) з клінічними і біохімічними ознаками залучення в патологічний процес мукополісахаридів. Серед 263 тільки у 6 (2,28%) виявлені синдромальні форми, в тому числі і з феноменом фенотипічної синтропії.

Під нашим наглядом знаходиться 3 родини, які мають дітей з мукополісахаридозом II типу (синдром Хантера) – клінічно і підтверджено

за допомогою ферментно-уточнюючої діагностики (відсутність активності ферменту ідуронатсульфатази) в поєднанні з поліморфізмом С677Т *MTHFR*. У одного з пацієнтів з грубими рисами обличчя (потовщеними надбрівними дугами, широким м'ясистим носом, довгим фільтром, повними губами, гіпертрофією ясен, збільшеним, з відбитками зубів язиком, дизморфічними вушними раковинами), сухою, мармуровою шкірою, з ціанотичними долонями, вираженим гіпертрихозом, укороченою шиєю, бочковидною грудною клітиною, контрактурами суглобів, обмеженням рухів тулуба і кінцівок) має місце мукополісахаридоз, II тип (хвороба Хантера), Х – зчеплений рецесивний тип успадкування, який маніфестував у результаті взаємодії точкової мутації і поліморфних варіантів генів фолатного циклу: С677Т гена *MTHFR* в гомозиготному стані, А66G гена *MTRR* в гетерозиготному стані на тлі порушеного епігенетичного статусу. У зв'язку з вищепереліченим у тактику лікування була введена фолатна терапія з метою нормалізації процесів епігенетичного статусу, на тлі якої була відзначена стабілізація процесу. З 2014 року дітям з мукополісахаридозом II типу проводиться фермент-замісна терапія препаратом «Ідурсульфаз» в індивідуальному віковому дозуванні.

Один пацієнт с МПС IV В (синдром Моркіо В) з різким зниженням активності ферменту b-D-галактозидази (5 нмоль/мг/год (референтний рівень – 8-240 нмоль/мг/год) (Dr. V.J.H.M. Poorthuis), на тлі поліморфізму *MTRR* 66GG («алель ризику» дефіциту кобаламіну), гіпертауринемії, гіпогомоцістеїнемії.

Синдром Моркіо – генетично гетерогенне захворювання, що підрозділяється на 2 типи. Має аутосомно-рецесивний тип успадкування. Ген картований на 3p21-3pter [1]. Мутантний фермент є мультимера і контролює строго специфічне відщеплення термінального

залишку десульфатованої галактози в молекулі кератансульфату, який входить до складу не тільки хрящової тканини і рогівки, але також і в молекули інших галактозовмістких з'єднань. Кератансульфат, катаболізм якого вибірково порушений при МПС IV В входить в число глікозаміногліканів. Оскільки галактоза знаходиться в складі тільки кератансульфатів, при даному захворюванні порушена внутрішньолізосомна деградація саме цього ГАГ (накопичення хондроїтин-6-сульфату), який і накопичується в лізосомах [3]. Перебіг захворювання є прогресивним. Вік початку класичної форми хвороби варіює від 1 року до 3,5 років. Хвороба маніфестує прогресуючою вальгусною деформацією колінних суглобів, кіфозом, відставанням росту на тлі диспропорційного укорочення тулуба і шиї, «качиної» ходюю. У клінічній картині захворювання домінують скелетні деформації у вигляді спонділоепіфізарної дисплазії з вторинними неврологічними ускладненнями. Спонділоепіфірна дисплазія при МПС IV типу включає: диспропорційну карликовість, кіфоз, сколіоз, лордоз, овоїдну деформацію тіл хребців, вальгусну деформацію колінних суглобів, ульнарну девіацію зап'ясть, вальгусну деформацію ліктьових суглобів, короткі фаланги, плоскі стопи, гіперрухливість великих і дрібних суглобів, нестабільність шийного відділу хребта. Як правило, спостерігаються дрібні зуби, дисплазія емалі і часто формується карієс. Обличчя мало змінено. А також характерно: помутніння рогівки, гепатоспленомегалія, вади серця (ураження аортального клапана), приглухуватість.

Наводимо наше спостереження. У ХМСМГЦ – ЦР(О)З звернулася сім'я С. з дівчинкою 7 років для уточнення діагнозу в зв'язку зі сполучнотканинною дисплазією, MASS-фенотипом, спонділоепіфізарною дисплазією. При зверненні мати пробанда пред'являла скарги на порушення ходи дитини, стомлюваність після фізичного навантаження, яка після відпочинку проходить. З анамнезу відомо, що дитина єдина в сім'ї. Народилася в терміні 39 тижнів, пологи фізіологічні. Вага при народженні 3300,0 г, зріст 53 см. Оцінка за шкалою Апгар 8-9 балів. Етапи психомоторного розвитку відповідали віку. Щеплена згідно з календарем. Хворила на ГРВІ, фарингіти. З 5-ти річного віку відзначено нудоти, зниження апетиту на тлі виявленої дискінезії жовчовивідних шляхів. У віці 6 років при проходженні медичного огляду в школу, при огляді педіатра вислуханий систолічний шум в серці. При проведенні УЗД серця виявлено ущільнення стулок мітрального клапану, аберантну хорду лівого шлуночку. В віці 7 років проведено УЗД серця в НДІ кардіології та кардіохірургії, діагностовано невелику аортальну недостатність, мінімальну мітральну недостатність. При УЗД

внутрішніх органів виявлено гепатомегалію (+1 см), ДЖВП.

На рентгенограмі грудно-поперекового відділу хребта в двох проекціях визначається сплюснення тіл грудних і поперекових хребців, помірна клиноподібна деформація в передніх відділах, звуження міжхребцевих щілин в грудному відділі, передні відділи хребців не рівні. Зменшення в обсязі тіла хребця L2 на 1/2, зміщення тіл хребців L2 в кінці на 7 мм, L5 наперед до 1 см. Діагностовано спонділоепіфізарну дисплазію. Консультована професором Поворознюком В.В. Встановлено діагноз: дисплазія сполучної тканини, MASS-синдром, системна остеопенія.

Для уточнення діагнозу сім'я спрямована в ХМСМГЦ-ЦР(О)З. При огляді в фенотипі звертають увагу: зріст – 120 см, вага – 21 кг, на шкірі – поодинокі некуси, мармуровість шкіри, вузьке обличчя, дрібні зуби, карієс, короткий ніс, короткий фільтр, високе піднебіння, коротка шия, вузька грудна клітина, деформована, гіперрухливість ліктьових суглобів, вузькі кисті, кіфосколіоз грудно-поперекового відділу хребта.

При обстеженні в ХМСМГЦ-ЦР(О)З встановлено: при дослідженні фракцій глікозамінгліканів сечі методом ГШХ виявлена фракція кератансульфатів, що може бути маркером МПС IV типу. ЦПХ – тест 213,7 Од ЦПХ г / креат. (при референтному значенні до 161 Од ЦПХ г / креат.).

При проведенні молекулярно-генетичного дослідження діагностовано мукополісахаридоз IV В типу, зниження ензиму β-галактозидази.

При дослідженні спектру органічних кислот сечі методом газової хроматографії і мас-спектрометрії виявлено зміни метаболітів циклу Кребса.

Досліджено поліморфні варіанти генів системи фолатно-метіонінового циклу. Встановлено генотип: ген *MTRR A66G* в гомозиготному стані, ген *MTR A2756G* в гетерозиготному стані.

При абдомінальній ехографії виявлено: помірна гепатоспленомегалія, помірне підвищення ехоцильності паренхіми печінки. Ознаки ДЖВП по гіпотонічному типу. При УЗД нирок: метаболічні зміни (включення 1,3 мм). Двосторонній гідрокалікоз. Наднирники не збільшені. В неврологічному статусі: м'язова гіпотонія, двостороння пірамідна недостатність.

На підставі отриманих даних встановлено діагноз: Мукополісахаридоз IV В типу на тлі поліморфізму *MTRR 66GG* («алель ризику» дефіциту кобаламину), гіпертауринемії, гіпогомоцістеїнемії.

У одного пацієнта встановлено поєднання МПС-подібного фенотипу з синдромом Елерса-Данлоса: грубі риси обличчя, диспропорційна статура, кілевидна деформація грудної клітини,

кіфосколиотична деформація хребта, крилоподібні лопатки, підвищена розтяжність шкіри, її м'якість, бархатистість, м'язова гіпотонія, гіперрухливість суглобів, варикозне розширення вен, набряк нижніх кінцівок. Під час обстеження виявлено гепатоспленомегалія, метаболічні, диспластичні зміни в нирках, пролапс мітрального клапану, додаткова хорда лівого шлуночка, ознаки підвищеної деградації колагену (оксипролін добової сечі – 155,4 мг/добу), підвищення екскреції глікозаміногліканів до 148 Од ЦПХ/г/креат., гіперпролінемія, гіпергліцинемія, гіперпролінурія, гіпергомоцистеїнемія – 26,6 мкмоль/л. У матері пробанда: диспропорційна статура, грубі риси обличчя, кіфосколиотична деформація хребта, м'яка, тістоподібна, гіпереластичність шкіри, гіперрухливість суглобів, варикозне розширення вен, лімфотичний набряк нижніх кінцівок. У пробанда і його матері виявлено поліморфізми *MTHFR G1793A / MTRR A66G*.

У однієї пацієнтки – поєднання МПС-подібного фенотипу з 45,X / 46,XX генотипом, поліморфізмом мтДНК (8697GA, 8860G, в тРНК-лізин), з «алелями ризику» *MTHFR 677TT*, з підвищенням рівня хондроїтин-4-сульфату, хондроїтин-6-сульфату.

Наводимо наше спостереження: хвора К. з синдромом Шерешевського-Тернера, що супроводжується порушенням обміну глікозаміногліканів.

*Скарги:* на болі в хребті, колінних, ліктьових, плечових суглобах, скутість рухів, швидко стомлюваність, слабкість, відсутність самостійних менструацій, затримка росту і статевого розвитку, деформація хребта, грудної клітини.

*Анамнез:* Хвора з народження, коли батьки відзначили набряк нижніх кінцівок, який через 2 тижні пройшов без лікування. Через рік батьки звернули увагу, що дівчинка відстає в зрості, хоча психічно розвивається з випередженням. Фізичний розвиток з 11 років характеризувався зниженням ростовагових показників, інтелектуальний розвиток був високим, добре вчилася в школі та університеті. Психоемоційний розвиток також був нормальним. У 12-річному віці забила правий гомілковостопний суглоб, в зв'язку з чим лікувалася в стаціонарі. Незабаром з'явилися болі в лівому гомілковостопному суглобі, які порушували ходу. Лікувалася в НДІ ОЗДП, був встановлений діагноз хронічного артриту, дисгенезія гонад, мозаїчна форма синдрому Шерешевського-Тернера. З перенесених захворювань в дитинстві відзначає гострі респіраторні інфекції, ексудативний діатез на тлі годування сумішами, травма лівої гомілки і чола. У 1993 р. встановлено діагноз ревматоїдного артриту, суглобова форма, повільно прогресуюче хронічне протягом, хронічний тонзиліт. З 15 років, у зв'язку з первинною аменореєю отримувала гормональне лікування мікрофоліном, після чого

з'явилися менструалоподібні виділення, в 18 років самостійно припинила гормональне лікування. У 19 років з'явилися зміни з боку хребта, кіфосколиоз, дифузний остеопороз, контрактири великих суглобів. Сформувався вторинна кардіоміопатія, пролапс мітрального клапана. У 2004 році відбувся енергетичний перелом стегна, після чого різко розвинулася м'язова гіпотонія, остеопороз, дислокація С4 – С5, посилювалися болі в суглобах і з'явилися обмеження руху в них. Хвора втратила здатність самостійно пересуватися. Спільно з ортопедами-травматологами проводилися реабілітаційні заходи, спрямовані на нормалізацію енергетичного обміну та обміну сполучної тканини, який характеризувався ураженням її проміжної речовини. Запідозрено формування у хворої з мозаїчною формою синдрому Шерешевського-Тернера вторинної мітохондріопатії, порушення обміну проміжної речовини сполучної тканини по типу мукополісахаридозу.

При ехографії органів черевної порожнини відзначені переважно інфільтрація в печінці, надлишок сполучнотканинних структур в перипортальній області, ознаки панкреатопатії, непрямі ознаки дуоденіту. При ехографії нирок: двосторонній нефроптоз, диспластичні і метаболічні зміни, гідрокалікоз. При гінекографії: різко виражена гіпоплазія матки, дизгенетичні яєчники.

Рентгенограма черепа і грудного відділу хребта: в грудному відділі визначається кіфосколиоз Th6-T7, в Th8-Th9 – частковий анкілоз, в сегментах С3-С7 і Th6-Th10 визначається явище спондилоартрозу та остеохондрозу. На тлі дифузного остеопорозу відзначається завуальованість крижово-клубового зчленування, кістки тазу без особливостей.

У клінічному аналізі сечі без патологічних змін, лише в окремих порціях помірна кількість оксалатів.

У скринінг-тестах сечі змін не виявлено.

Клінічний аналіз крові характеризувався в динаміці анемією від 104 г / л до 116 г / л і прискороною ШОЕ від 20 до 50 мм/год, інші показники не змінені.

У ТШХ сечі в динаміці високий рівень проліну – 52,36 мг / добу (норма 11,2-38,6), арнітин-аргінін-гістидінурія.

При високоефективній рідинній хроматографії визначається зниження рівня гістидину і треоніну, інші амінокислоти – в межах референтних значень.

Біохімічний профіль в динаміці характеризувався підвищенням рівня лужної фосфатази від 209,1 Од/л до 240,7 Од/л (при нормі до 104 Од/л), підвищенням холестерину до 66,58 ммоль/л, АСТ від 41,4 до 60,2; зниженням рівня альбуміну до 32,19.

Дослідження серомукоїдів в динаміці –

сіалові кислоти – 327-415-980 Од (норма до 200), глікопротеїди – 0,74-0,79 Од (норма 0,25-0,45), кальцій – 2,3-3,0 ммоль /л (норма 2,2-3,2), лужна фосфатаза – 10,5-12,1-13,0 Од (норма 2-5), холестерин 4,5 ммоль/л. (норма 3,6-6,2), тимолова проба 12,0 Од (норма 0-4),  $\beta$  – ліпопротеїди 41 Од (норма 35-45); глобуліни  $\alpha$ 1-5,0% (норма 4-7),  $\alpha$ 2 – 13,5% (норма 7-9),  $\beta$  – 16,2% (норма 9-14),  $\gamma$ -18,7% (норма 14 – 19).

Система згортання крові – без змін.

В імунограммі: в клітинній ланці імунітету зниження Т-лімфоцитів зі збереженням реактогенності на імуноотропні препарати. Збільшення лімфоцитотоксичних аутоантитіл на тлі незначного зниження комплементарної активності, що свідчить про аутоімунний компонент. Відзначається сенсibiliзація до антигену вірусу герпес. Різке порушення співвідношення імунорегуляторних клітин, що призвело до дисбалансу (за рахунок зниження CD4 і підвищення CD8). Підвищення імуноглобулінів А і G на тлі високого ШОЕ (52 мм/год) свідчить про активність запального процесу. Незважаючи на різке зниження хелперної ланки імунітету, що має, швидше за все, компенсаторний характер, на тлі аутоімунного процесу імуностимулююча терапія не показана.

При ЯМРТ шийного та грудного відділу хребта структурних змін в кістках не виявлено. Груба кіфотична деформація осі на рівні верхнього грудного відділу (найімовірніше, за рахунок порушень в зв'язках) з помірними гіпотрофічними змінами в дисках, без дискогенної компресії каналу хребта. За рахунок посилення кіфозу відзначається зниження висоти тіл хребців в передніх відділах. Спинний мозок не вражений, ліквороток не порушений.

Проведено молекулярну діагностику в лабораторії молекулярної антропології

Пенсільванського університету (Теодор Шурр, Сергій Жаданов) з використанням таких методів як, секвенування і ПДРФ-аналіз мтДНК, виділеної із зразків крові і волосся. Виявлено поліморфізм 8697G / A, 8860G в гені *mPНК*-лізин.

На підставі проведеного обстеження встановлено діагноз: Мозаїчна форма синдрому Шерешевського-Тернера в поєднанні з мукополісахаридозом і вторинною мітохондріопатією. Призначене лікування включало біоенергетичну терапію, ортопедичну реабілітацію, розроблено індивідуальну дієтотерапію, масаж, кінезотерапію, що дозволило стабілізувати клінічну маніфестацію.

Зазначене спостереження, з одного боку, є ілюстрацією нашого припущення про те, що мозаїчні форми хромосомних хвороб несуть в собі потенціал маніфестації того чи іншого метаболічного порушення, який і визначає подальший розвиток клінічних ознак. Важка травма, що мала місце, послужила фактором ініціації закладеного порушення обміну речовин, в даному спостереженні – глікозаміногліканів. Мітохондріопатія приєдналася на тлі важкої дезорганізації обміну сполучної тканини, а призначена біоенергетична терапія виявилася ефективною в комплексному симптоматичному лікуванні.

**Висновки.** При наявності у пацієнтів органомегалії, лицьових дізморфій слід провести обстеження для виключення лізосомної хвороби накопичення. Необхідно дослідження рівня глікозаміногліканів і проведення фермент-уточнюючої діагностики для розробки тактики корекції метаболічних порушень і індивідуалізації реабілітаційних заходів. Виявлення клінічного поліморфізму порушення обміну глікозаміногліканів дозволяє індивідуалізувати тактику лікування і реабілітації пацієнтів.

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. Воскобоева, Е. Ю. ДНК-диагностика наследственных мукополисахаридозов / Е. Ю. Воскобоева // Медицинская генетика. – 2006. – Т. 5, № 10. – С. 33–37.
2. Краснополяская К.Д. Наследственные лизосомные болезни / К.Д. Краснополяская. – Информационное письмо: М., 2002. – С. 5.
3. Семякина, А. Н. Мукополисахаридозы у детей / А. Н. Семякина [и др.] // Рос. вест. перинат. и педиатрии. – 2007. – № 4. – С. 22–29.
4. Темин П.А. Болезни накопления, сопровождающиеся нарушением нервно-психического развития. Наследственные нарушения нервно-психического развития детей. Руководство для врачей / Под ред. П.А. Темина, Л.З. Казанцевой. – М. Медицина, 2001. – С. 139–49.
5. Dangel J. Cardiovascular changes in children with mucopolysaccharide storage diseases and related disorders: clinical and echocardiographic findings in 64 patients / J. Dangel // Eur. J. Pediatr. – 1998. – Vol. 157. – P. 534–538.
6. Martin R. Recognition and diagnosis of mucopolysaccharidosis II (Hunter syndrome) / R. Martin [et al.] // Pediatrics. – 2008. – Vol. 121, № 2. – P. 377–386.

*Е. Я. Гречанина, О.В. Бугаёва*

**РАРИТЕТНЫЕ КОНГЛОМЕРАТЫ БОЛЕЗНЕЙ  
СРЕДИ НАРУШЕНИЙ ОБМЕНА ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНОВ**

**Резюме.** В статье Гречаниной Е.Я., Бугаевой Е.В. «Раритетные конгломераты болезней среди нарушений обмена гликозаминогликанов» представлен клинический полиморфизм различных вариантов нарушений обмена гликозаминогликанов, феномен фено – и генотипической синтропии, методы диагностики лизосомных болезней накопления.

**Ключевые слова:** раритетные болезни; нарушения обмена; болезни накопления; соединительная ткань; мукополисахаридозы.

*O.Ya. Grechanina, E.V. Bugaeva*

**RARIAL CONGLOMERATES OF DISEASES  
AMONG THE DISORDERS OF GLYCOSAMINOGLYCANS**

**Summary.** In the article Grechanina H.Ya., Buhaiova H.V. «Rare conglomerates of diseases among metabolic disorders of glycosaminoglycans» presents the clinical polymorphism of various variants of metabolic disorders of glycosaminoglycans, the phenomenon of pheno – and genotypic syntropy, methods for diagnosing lysosomal storage disorders.

**Key words:** rare diseases; metabolic disorders; diseases of accumulation; connective tissue; mucopolysaccharides.

Надійшло до редакції 11.10.2018р.  
Підписано до друку 29.11.2018р.

Г.О. Яновська

Міжобласний спеціалізований медико-генетичний центр – центр рідкісних (орфанних) захворювань,  
Харків, Україна

## ПОРУШЕННЯ МЕТАБОЛІЗМУ АМІНОКИСЛОТ ПРИ ПЕРИНАТАЛЬНИХ ЕНЦЕФАЛОПАТИЯХ, ЩО ВИКЛИКАНІ ГІПОКСИЧНИМ УШКОДЖЕННЯМ

**Резюме.** Перинатальна енцефалопатія (ПЕП) об'єднує порушення функції або структури головного мозку різного походження, що виникають в перинатальний період в результаті несприятливих факторів в антенатальному періоді, починаючи з 28 тижнів, під час пологів і в перші 7 днів після народження дитини. У статті наведені основні метаболічні шляхи амінокислот в організмі та зміни в обміні амінокислот під дією гіпоксії, інфекції, порушень харчування в перинатальному періоді, плацентарної дисфункції. Представлені матеріали демонструють зв'язок між порушеннями амінокислотного обміну та механізмами розвитку перинатальних енцефалопатій, а також роль окремих амінокислот (глутамат, серін, метіонін, таурін, триптофан та інші) в формуванні перинатальної патології, значення деяких амінокислот як біологічних маркерів для уточнюючої діагностики та патогенетичної терапії перинатальної патології.

**Ключові слова:** перинатальна енцефалопатія; амінокислоти.

**Вступ.** Серед патологічних станів у новонароджених найбільш розповсюджена перинатальна енцефалопатія (ПЕП). Незважаючи на високу частоту та багаторічний досвід вивчення цієї проблеми, причинно-наслідкові зв'язки при ПЕП до кінця ще не вивчені.

За визначенням, ПЕП – це збірний діагноз, він об'єднує порушення функції або структури головного мозку різного походження, що виникають в перинатальний період [1]. Ці патологічні стани зумовлені впливом на нервову систему плоду або новонародженого несприятливих факторів в антенатальному періоді, починаючи з 28 тижнів, під час пологів і в перші 7 днів після народження [1, 2].

На сьогодні основними причинами ПЕП вважаються наступні:

- соматичні захворювання матері з явищами хронічної інтоксикації;
- інфекційні захворювання матері в період вагітності;
- порушення харчування та загальна незрілість вагітної жінки;
- спадкові захворювання і порушення обміну речовин;
- патологічний перебіг вагітності (гестози, загроза переривання вагітності та ін.);
- шкідливий вплив навколишнього середовища;
- патологічний перебіг пологів (стрімкі пологи, слабкість пологової діяльності, травми).

Незалежно від етіологічного чинника, прояви перинатальних енцефалопатій неспецифічні;

основними синдромами ПЕП в гострому періоді можуть бути: синдром пригнічення ЦНС; коматозний синдром; судомний синдром; синдром підвищеної нервово-рефлекторної збудливості; гіпертензійно-гідроцефальний синдром [3, 1].

Наслідки перинатальних ушкоджень ЦНС можуть бути різноманітні – від мінімальної мозкової дисфункції до грубих рухових та інтелектуальних розладів.

Реакція незрілої ЦНС значно відрізняється від реакції ЦНС дорослої людини через особливу чутливість до різних агентів. Вважаючи, що друга половина вагітності є періодом бурхливого розвитку ГАМК-ергічної системи кори мозку, що продовжується в ранньому дитинстві, саме цей період відповідає максимальній уразливості до перинатальної гіпоксії-ішемії [5, 4]. Ураження головного мозку в перинатальний період не тільки обумовлюють розвиток захворювань на 1 році життя дитини, але і в більш старшому віці, є основною причиною інвалідизації та дезадаптації дітей, що спонукає вчених по всьому світу до уточнення причин, механізмів розвитку та патогенетичної корекції патологій перинатального періоду [3, 2, 6].

Клінічні прояви перинатальних уражень часто неспецифічні, і тому можуть маскувати маніфестацію вроджених метаболічних порушень.

За даними G.F. Hoffmann, частота метаболічних хвороб взагалі складає біля 1:500 новонароджених [7]. Особливу роль, на наш погляд, відіграють амінокислоти – вони приймають участь у більшості біохімічних циклів організму. Частота вроджених аміноацидопатій коливається

від 1:10.000 до 1:100.000 новонароджених, а частота гетерозиготних носіїв патологічного гена становить приблизно 1:100 — 1:400 [8].

Амінокислоти (АК) – це органічні сполуки, молекули яких одночасно містять карбоксильні та аміногрупи. Вони є не тільки складовими білкових молекул, але й приймають участь в багатьох найважливіших процесах в організмі: в утворенні пуринових нуклеотидів (глутамін, гліцин і аспараганова кислота), піримідинових нуклеотидів (глутамін і аспарагілова кислота), серотоніну (триптофан), меланіну (фенілаланін, тирозин), гістаміну (гістидин), адреналіну, норадреналіну, дофаміну, тираміну (тирозин), поліамінів (аргінін), холіну (метіонін), порфіринів (гліцин), креатину (гліцин, аргінін, метіонін), коферментів, цукрів і полісахаридів, ліпідів та ін. [9, 10]. Можуть вступати в цикл Кребса, брати участь у метаболізмі вуглеводів і ліпідів [11].

20 α-амінокислот, які зустрічаються в білках організму, можна розділити на чотири групи:

- замінні амінокислоти – аланін, аспарагін, аспартат, глутамін, глутамат, пролін, гліцин, серін – синтезуються в організмі;

- незамінні амінокислоти – валін, лейцин, ізолейцин, метіонін, фенілаланін, триптофан, лізин, треонін – не можуть синтезуватися в організмі і повинні надходити з їжею;

- частково замінні амінокислоти – гістидин, аргінін – синтезуються повільно, менш за потреби організму, особливо у дітей;

- умовно замінні амінокислоти – цистеїн, тирозин – синтезуються з незамінних метіоніну та фенілаланіну відповідно [9, 10].

Деякі замінні амінокислоти можуть ставати незамінними, якщо не надходять з їжею, коли організм не справляється з їх швидким синтезом [12].

Найбільша швидкість обміну амінокислот спостерігається в нервовій тканині.

Попадаючи в організм з їжею, за допомогою ферментів шлунку (пепсин) та тонкого кишківника (трипсин, хімотрипсин) білок розщеплюється до олігопептидів, які пептидази мікроборсин ентероцитів розщеплюють далі, до амінокислот, ди – і три пептидів. Ці продукти всмоктуються шляхом активного транспорту з натрієм [13].

Більшість амінокислот, що надходять у печінку по ворітній вені, метаболізуються до сечовини (крім розгалужених амінокислот – лейцину, ізолейцину і валіну) [11].

Найважливішою хімічною реакцією проміжного обміну білка є реакція трансамінування в печінці, як основне джерело біосинтезу замінних амінокислот в організмі. Найбільш активно в ній беруть участь глутамінова і аспарагінова кислоти [9].

Порушення трансамінування може спровокувати дефіцит вітаміну В6, який у

формі піридоксальфосфату є активною групою трансаміназ. Пошкодження печінки можуть патологічно посилювати переамінування [14]. Процеси переамінування амінокислот тісно пов'язані з процесами окисного дезамінування, коли від АК відщеплюється аміак; утворюються безазотисті залишки, що використовуються для синтезу глюкози, кетонних тіл або окислюються до CO<sub>2</sub> і H<sub>2</sub>O [10]. Порушення дезамінування виникають внаслідок зниження активності амінооксидаз, але також при зниженні окислювальних процесів в тканинах (гіпоксії, гіповітамінози С, РР, В2) [11]. Аміак (NH<sub>3</sub>), що вивільняється при метаболізмі амінокислот, через ряд реакцій орнітинового циклу перетворюється в сечовину та видаляється з сечею.

Порушення обміну АК можуть бути пов'язані з надходженням, розподілом, синтезом і розпадом амінокислот. Клінічні ознаки аміноацидопатій виникають внаслідок накопичення токсичних метаболітів (наприклад, фенілпіровиноградна кислота при фенілкетонурії, гомоцистеїн при порушенні обміну сірковмісних амінокислот), і недостатності відповідних продуктів реакції. Маніфестують порушення обміну АК на всіх етапах онтогенезу, але більшість мають свої прояви вже в перші тижні або місяці життя у вигляді неврологічних розладів, диспепсії, дерматиту. Найчастіше ураженими органами є головний мозок, печінка та нирки. Гострі симптоми зазвичай асоціюються з катаболічними станами. Дослідження механізму запуску гострих станів при спадкових порушеннях обміну амінокислот виявило наступні чинники: інфекції, гіпоксія; неадекватне для даного порушення годування, операції, травми, які виконують роль тригерів [7, 15, 6, 12, 16].

До порушень АК з перинатальною маніфестацією класично відносять фенілкетонурію, тірозиноз, хворобу кленового сиропу, порушення орнітинового циклу; та дослідження останніх років демонструють зв'язок між змінами ряду інших амінокислот і ПЕП.

Рання діагностика цих порушень вкрай важлива; більша частина порушень піддається лікуванню шляхом дієти з обмеженням споживання білків амінокислот, залучених до дефектного шляху метаболізму, із додаванням амінокислот із незмінним метаболізмом;

призначенням кофакторів і мікроелементів, а також шляхом попередження катаболічних станів [15, 17, 6].

**Розглянемо деякі чинники та механізми порушень при ПЕП, що вивчалися останніми роками.**

Перинатальна гіпоксія вважається основним механізмом розвитку ПЕП; вона ініціює процеси, що призводять до підвищення проникності клітинних мембран, загибелі

нейроновів і гліальних клітин внаслідок некрозу та апоптозу; виникає порушення проникності гематоенцефалічного бар'єру [1]. В той же час не виявляється прямої залежності між тривалістю кисневого дефіциту та важкістю ураження: іноді мозок дитини переносить серйозний дефіцит кисню без великої для себе шкоди [8].

Дослідження останнього десятиліття підтверджують велику роль внутрішньоутробних інфекцій та сенсibiliзуючого впливу запалення в етіології перинатального ураження ЦНС [1, 19]. Цьому сприяє той факт, що основні елементи нервової системи закладаються в першому триместрі вагітності, а плацентарний бар'єр формується лише з третього місяця. Крім того, при гіпоксії мозку в пологах майже завжди страждає центр дозрівання імунітету, розташований в довгастому мозку. Внаслідок цього кишківник заселяє флора, яка живе в пологових будинках, особливо при ранньому переході на штучне вигодовування; виникає дисбіоз [18].

Важливість окремих метаболічних шляхів, їх взаємодія в процесі перинатальної патології ще повністю не зрозумілі. Виявлені значні зміни метаболітів з 3 різних класів – амінокислот, ацилкарнітинів і гліцерофосфоліпідів [20]. Багаточисельні дослідження вказують на величезну роль амінокислот в регуляції діяльності нервової системи.

У гострий період церебральної катастрофи виявлений дисбаланс між нейроамінокислотами в бік збільшення збуджуючих (аспарагінова та глутамінова) та зменшення гальмівних (гліцин, пролін, таурин). Зменшується рівень гістидину та цистину — амінокислот, що вважаються природними антиоксидантами. Є дані про значний взаємний вплив аспартату та глутамату. В дослідженнях вміст нейроамінокислот (глутамінова кислота, гліцин та таурин) був вірогідно вищий у хворих на глибокий неврологічний дефіцит [21].

Глутамат приймає найактивнішу участь в детоксикації та пластичному обміні: включається в склад фолієвої кислоти та глутатіону, приймає участь в обміні більш ніж 50% азоту білкових молекул. Концентрація глутамату в мозку майже у 80 разів перевищує рівень в сироватці крові [9]. Дослідження у пробірці вказують на те, що глутамат впливає на процеси раннього розвитку мозку, такі як проліферація, міграція та диференціація. Під дією високих рівней глутамату внутрішньоутробно на мишах виявляють множинні дефекти головного мозку [22]. Глутамат відповідає за перезбудження уражених нейронів через N-метил-D-аспартатні рецептори (NMDA), – центральний механізм церебральної гіпоксії-ішемії; сприяє неконтрольованому входу кальцію в нейрони, активуючи процеси перекисного окислення ліпідів, процеси протеолізу та апоптозу

[23, 24, 25]. Підвищення глутамату може викликати загибель клітин-попередників олігодендроцитів, що вносить значний внесок у патогенез гіпоксії-ішемії, а також демієлінізуючих, травматичних уражень, апоптозу [26]. β-аланін впливає на активність GABA транспортера в головному мозку [27].

Було встановлено нейротрансмітерну роль D-серину в ЦНС; зв'язуючись з NMDA – рецептором, він відіграє роль в механізмах ексайтотоксичності, перинатальної асфіксії, епілепсії та ін. Позаклітинні концентрації гліцину і D-серину були помітно збільшені в клітинах глії щура, що зазнали гіпоксію. Відразу після реперфузії концентрації гліцину та серину спочатку підвищуються, а після цього концентрація гліцину нормалізується, а концентрація D-серину знижується [28, 29].

Цілий ряд досліджень підтверджують роль окремих амінокислот в розвитку плодів, вплив змінених концентрацій АК на інші види обміну речовин, а також залежність від факторів, що впливають на метаболізм АК.

Наприклад встановлено, що Ноя-лаксовий синдром, який характеризується порушеннями розвитку плода, мікроцефалією, іхтіозом, скелетними аномаліями, може бути крайнім варіантом вродженої помилки метаболізму серіну. Виявлена асоціація з геном PHGDH, що кодує фермент на шляху синтезу серіну DeNovo [30]. Метаболізм метіоніну стає за останні роки в центрі проблем метаболізму, бо він являється універсальним донором метильних груп – одного із біологічних маркерів епігенезу [31].

Дослідження факторів ризику у дітей з перинатальною енцефалопатією виявило зв'язок пошкодження білої речовини із гіпоглікемією, підвищеним рівнем гомоцистеїну в плазмі та MTHFR 677CT або TT генотипом; ураження базальних гангліїв / таламусів були асоційовані із гострим ішемічним ураженням (низькими балами за шкалою Апгар) [32].

Було підтверджено вплив рівню материнського гомоцистеїну на рівень гомоцистеїну пуповинної крові, рН крові і прееклампсію. Тому підвищення рівня гомоцистеїну в першому триместрі може бути сигналом розвитку прееклампсії на пізніх термінах вагітності та раннім допологовим біомаркером захворюваності у новонароджених [33, 34]. Є повідомлення, що у недоношених дітей може бути відносно високий, тобто, в межах нормального діапазону дорослих, рівень гомоцистеїну, при цьому не було знайдено кореляції між рівнями гомоцистеїну в крові та післяпологовими ускладненнями [35].

Експериментальний гестоз у тварин викликає затримку розвитку, созріванні сенсорно-рухових рефлексів у потомства, затримку психічного розвитку. Пріозводні нейроактивних



АК в експерименті зменшували негативний вплив гестозу на потомство [36].

Порушення материнського перинатального харчування підвищує ризик розвитку метаболічного синдрому в зрілому віці [37]. Так, споживання їжі з високим вмістом ліпідів та сахарози може запрограмувати ожиріння, вміст метильних донорів має вплив на регулювання циклу метіонін-гомоцистеїн [38]. Гіпоглікемія вагітної визиває ранню активацію продукції глюкози у плода [39].

В експерименті на тваринах показано, що склад материнського молока залежить від материнської дієти і зміни в складі молока впливають на зростання потомства, а також на процеси метаболічного програмування [40]. Зміни вмісту таурину під час перинатального життя сприяють артеріальній гіпертензії в дорослому житті; вирогідно, це пов'язано з регулюванням росту і розвитку центральної і вегетативної нервової системи. На самках щурів – перинатальний дисбаланс таурину впливає на взаємодію ренінаангіотензинової системи і естрогену, інсулінорезистентність у дорослих [41, 42]. Споживання при вагітності високих доз глутамату натрію щурами призводить до ожиріння, затримки росту і пригнічення цитохрому P450 [43]. Спроба підвищити вагу при народженні добавками амінокислот вагітній в експерименті на вівцях призвела до конкурентного гальмування транспорту АК через плаценту [44]. Материнська дієта з низьким вмістом білка призводила до серцево-судинних, метаболічних і поведінкових порушень у дорослих нащадків; в регуляції процесів були залучені епігенетичні механізми. Ймовірно, це дія у відповідь, щоб захистити зростання плода [45]. При недостатності білка можуть виникати і специфічні порушення в обміні окремих амінокислот. Дефіцит окремих амінокислот, в свою чергу, призводить до органних уражень. Наприклад, недостатнє споживання білка веде до збільшення перетворення гістидину в гістамін [14]. Дефіцит гістидину призводить до зниження концентрації гемоглобіну; недолік валіну викликає затримку росту, схуднення і т.ін. [12].

Продовжує вивчатись роль в патології плацентарної дисфункції. Основні субстрати, необхідні для росту плода – це кисень, глюкоза, амінокислоти і жирні кислоти; процеси їх переносу залежать від таких характеристик плаценти, як плацентарний розмір, морфологія, кровоток і васкуляризація, та ін. Затримка внутрішньоутробного розвитку (ЗВУР) часто є наслідком недостатності плаценти та асоціюється з високим рівнем перинатальної захворюваності і смертності, а також підвищеним ризиком серцево-судинних і метаболічних захворювань в подальшому житті [46]. Дослідження на вівцях

показало, що при плацентарній недостатності, що викликає гіпоксемію і гіпоглікемію плода, зниження поглинання АК пов'язане не з порушенням транспорту АК плацентою, а є наслідком зниження окисного метаболізму і швидкості росту плода, які разом знижують попит плода в АК [47]. Нові дані свідчать про те, що зміни регуляції плацентарного транспорту амінокислот безпосередньо впливають на порушення росту плода [48].

Післяпологове харчування має важливе значення для росту мозку і дозрівання, які зберігаються в дитячому та підлітковому віці. Запалення і перинатальна інфекція відіграють вирішальну роль у патогенезі ушкодження білої речовини. Виявлена імуномодулююча та / або протизапальна дія деяких харчових компонентів. Аспарагінова та глутамінова кислоти оказують виражену дію на грампозитивні та грамнегативні бактерії, а також мають фунгіцидні властивості по відношенню до грибів роду кандіда [49].

Все більше свідчень підтверджує існування впливу стану кишківника на мозок через імунологічні, ендокринні та нервові шляхи; харчові компоненти, які нормалізують кишкову флору, можуть також сприятливо впливати на мозок. Тому деякі амінокислоти, як і пробіотики, є потенційними кандидатами на нейропротекцію [50].

В моделі на тваринах виявлено, що концентрація триптофану відіграє роль в перинатальному розвитку і функції ШКТ; триптофан-попередник серотоніну, який відіграє вагому роль у рухливості кишківника та секреції його слизової [51]. При ЗПМР також виявлялось підвищення концентрацій триптофану в плазмі та тканинах мозку [52].

В патогенезі анемічних станів вагітних та їх новонароджених значну роль відіграє дисбаланс АК, що приймають участь в гемопоезі та обміні заліза.

У дітей, народжених від матерів із залізодефіцитною анемією виявлено зниження треоніну, валіну, метіоніну, лейцину, ізолейцину, лізину, гістидину, аргініну; підвищення триптофану, фенілаланіну у порівнянні із дітьми контрольної групи. У новонароджених з анемією відмічено пряму кореляцію між вмістом гемоглобіну та гістидином, а також кількістю еритроцитів та лізином [53].

Таким чином, представлені матеріали показують складні механізми розвитку і регуляції перинатальних ускладнень, які ще до кінця не з'ясовані; взаємний вплив перинатальних уражень та амінокислотних порушень; необхідність з'ясування причин клінічних проявів, в тому числі через пошук біологічних маркерів для уточнювальної діагностики та патогенетичної терапії патологічних станів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ:

1. Баранов А.А. Детские болезни. 2009; 2-е изд.: 1008 с. [http://vmede.org/sait/?page=10&id=Pediatriya\\_ped\\_diz\\_barabanova\\_2009](http://vmede.org/sait/?page=10&id=Pediatriya_ped_diz_barabanova_2009)
2. Соколова О. Г. Перинатальные гипоксические поражения нервной системы у детей первого года жизни: клинико-диагностические аспекты. Диссертация к.мед.н. Нижний Новгород. 2006; 127 с.
3. Вильниц А. Диагноз: «перинатальная энцефалопатия». <http://www.7ya.ru/article/Diagnoz-perinatalnaya-jencefalopatiya/>
4. Сапа И. Ю. Перинатальная энцефалопатия у детей. <http://www.likar.info/detskie-bolezni/article-42854-perinatalnaya-entsefalopatiya-u-detey>
5. Xu G, Broadbelt KG, Haynes RL, Folkerth RD, Borenstein NS, Belliveau RA, Trachtenberg FL, Volpe JJ, Kinney HC. Late development of the GABAergic system in the human cerebral cortex and white matter. *J NeuropatholExp Neurol.* 2011 Oct;70(10):841-58. doi: 10.1097/NEN.0b013e31822f471c.
6. Баранов А.А., Боровик Т.Е., Ладодо К.С., Гречанина О.Я., Здибська О.П., Гречанина Ю.Б. Спадкові порушення обміну амінокислот. Метод. рекомендації. Харків, 2013; 111с.
7. Georg F. Hoffmann, Johannes Zschocke. *Vademecum Metabolicum.* Фридрихс-дорф, ФРГ 2011.
8. <http://meduniver.com/Medical/Neurology/1006.html/> (Наследственные нарушения обмена аминокислот. Фенилпировиноградная олигофрения.)
9. Сырочая А.О., Шаповал Л.Г., Макаров В.А., Петюнина В.Н., Грабовецкая Е.Р., Андреева С.В., Наконечная С.А., Бачинский Р.О. и соавт. Аминокислоты глазами химиков, фармацевтов, биологов. Харьков: «Щедра садиба плюс», 2014; 228с.
10. Северин С.Е. Биологическая химия с упражнениями и задачами. 2011. – 624 с. Модуль 9: обмен аминокислот. <http://vmede.org>
11. <http://humbio.ru/humbio/har3/00262f79.htm/> Печень: обмен аминокислот и нарушения обмена.
12. [vunivere.ru/work5273/page7](http://vunivere.ru/work5273/page7) (Патология аминокислотного обмена. Наследственные нарушения транспорта аминокислот.)
13. Шалаева И.В. Нарушения обмена аминокислот // Газета «Новости медицины и фармации» Гастроэнтерология (304). – 2009. (опублик. 28.06.2010).
14. Патофизиология Новицкого, Е.Д. Гольдберга. Патофизиология типовых нарушений обмена веществ. Том 1 – 2009 г., гл. 12.
15. [http://vmede.org/sait/?id=Patofiziologija\\_novickij\\_goldberg](http://vmede.org/sait/?id=Patofiziologija_novickij_goldberg) (опублик. 2.11.2011).
16. Н. Бляу, Г. Гофман, Дж. Леонард, Дж. Кларк/ Врачебное руководство по лечению и катамнезу метаболических заболеваний.
17. Зайцев С.В., Царенко О.С. Нейрореаниматология. Выход из комы (терапия пост коматозных состояний) /— М.: Литасс, 2012. — 120 с.
18. Hoffmann G.F., Nyhan W.L., Zschocke J., Kahler, S.G. & Mayatepek, E. *Inherited Metabolic Diseases.* Philadelphia: LippincottWilliams&Wilkins.2001.
19. ПЭП (перинатальная энцефалопатия) у новорожденного и грудного ребенка. <http://www.medicalj.ru/diseases/perinatal/640-perperinatalnaja-encefalopatiya>.
20. Hassell KJ, Ezzati M, Alonso-Alconada D, Hausenloy DJ, Robertson NJ.
21. New horizons for newborn brain protection: enhancing endogenous neuroprotection.
22. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2015 Jun 10. pii: fetalneonatal-2014-306284. doi: 10.1136/archdischild-2014-306284. [Epub ahead of print]
23. Walsh BH, Broadhurst DI, Mandal R, Wishart DS, Boylan GB, Kenny LC, Murray DM. The metabolomic profile of umbilical cord blood in neonatal hypoxic ischaemic encephalopathy. *PLoS One.* 2012;7(12):e50520. doi: 10.1371/journal.pone.0050520. Epub 2012 Dec 5.
24. Зозуля І.С., Боброва В.І., М'ясникова М.П., Сич Н.С. Стан нейроамінокислот у хворих у гострому періоді інфаркту мозку з когнітивними порушеннями. *Міжнародний неврологічний журнал.* 7 (37) 2010.
25. Tanaka K. Brain development and glutamate. *Brain Nerve.* 2013 Oct;65(10):1121-32.
26. Пипа Л.В., Свістільнік Т.В. Вивчення впливу ексайтотоксичних амінокислот на ступінь порушення свідомості при гнійних менінгітах у дітей. «Здоров'я ребенка» 4 (47) 2013.
27. Zhang X.-M. Kainic acid-induced neurotoxicity: targeting glial responses and glia-derived cytokines / Xing-Mei Zhang, Jie Zhu // *Current Neuropharmacology.* — 2011. — Vol. 9. — P. 388-398.
28. Griesmaier E, Posod A, Gross M, Neubauer V, Wegleiter K, Hermann M, Urbanek M, Keller M, Kiechl-Kohlendorfer U. Neuroprotective effects of the sigma-1 receptor ligand PRE-084 against excitotoxic perinatal brain injury in newborn mice.
29. *Exp Neurol.* 2012 Oct;237(2):388-95. doi: 10.1016/j.expneurol.2012.06.030. Epub 2012 Jul 6.
30. Simonishvili S, Jain MR, Li H, Levison SW,

- Wood TL. Identification of Bax-interacting proteins in oligodendrocyte progenitors during glutamate excitotoxicity and perinatal hypoxia-ischemia. *ASN Neuro*. 2013 Dec 23;5(5):e00131. doi: 10.1042/AN20130027.
31. Pozdnyakova N, Dudarenko M, Yatsenko L, Himmelreich N, Krupko O, Borisova TI
  32. Perinatal hypoxia: different effects of the inhibitors of GABA transporters GAT1 and GAT3 on the initial velocity of [3H] GABA uptake by cortical, hippocampal, and thalamic nerve terminals. *Croat Med J*. 2014 Jun 1;55(3):250-8.
  33. Fuchs SA1, Berger R, de Koning TJ. D-serine: the right or wrong isoform?
  34. *Brain Res*. 2011 Jul 15;1401:104-17. doi: 10.1016/j.brainres.2011.05.039. Epub 2011 May 23.
  35. Fuchs SA, Peeters-Scholte CM, de Barse MM, Roeleveld MW, Klomp LW, Berger R, de Koning TJ. Increased concentrations of both NMDA receptor co-agonists D-serine and glycine in global ischemia: a potential novel treatment target for perinatal asphyxia.
  36. *Amino Acids*. 2012 Jul;43(1):355-63. doi: 10.1007/s00726-011-1086-9. Epub 2011 Sep 23.
  37. Shaheen R, Rahbeeni Z, Alhashem A, Faqih E, Zhao Q, Xiong Y, Almoisheer A, Al-Qattan SM, Almadani HA, Al-Onazi N, Al-Baqawi BS, Saleh MA, Alkuraya FS.
  38. Neu-Laxova syndrome, an inborn error of serine metabolism, is caused by mutations in PHGDH. *Am J Hum Genet*. 2014 Jun 5;94(6):898-904. doi: 10.1016/j.ajhg.2014.04.015. Epub 2014 May 15.
  39. Гречанина Е.Я., Гречанина Ю.Б., Васильева О.В., Гусар В.А. Наследственно обусловленные тромбофилии. Учебное пособие. Харьков 2010; 62с.
  40. Harteman JC, Groenendaal F, Benders MJ, Huisman A, Blom HJ, de Vries LS. Role of thrombophilic factors in full-term infants with neonatal encephalopathy. *Pediatr Res*. 2013 Jan;73(1):80-6. doi: 10.1038/pr.2012.150. Epub 2012 Nov 5.
  41. Usluer H1, Turker G, Gokalp AS. Value of homocysteine levels, troponin I, and score for neonatal acute physiology and perinatal extension II as early predictors of morbidity. *Pediatr Int*. 2012 Feb;54(1):104-10.
  42. Masoura S1, Kalogiannidis IA, Gitas G, Goutsoulis A, Koiou E, Athanasiadis A, Vavatsi N. Biomarkers in pre-eclampsia: a novel approach to early detection of the disease. *J Obstet Gynaecol*. 2012 Oct;32(7):609-16. doi: 10.3109/01443615.2012.709290.
  43. Maayan-Metzger A, Lubetsky A, Kuint J, Rosenberg N, Simchen MJ, Kuperman A, Strauss T, Sela BA, Kenet G. The impact of genetic and environmental factors on homocysteine levels in preterm neonates. *Pediatr Blood Cancer*. 2013 Apr;60(4):659-62. doi: 10.1002/pbc.24352. Epub 2012 Sep 28.
  44. Тюренков Н.И., Перфилова В.Н., Михайлова Л.И., Жакупова Г.А., Лебедева С.А. Сравнительное изучение влияния новых производных нейроактивных аминокислот на постнатальное развитие потомства крыс с экспериментальным гестозом. Вестник Российской академии медицинских наук. 2014; Москва, №9-10: с.123-130
  45. Batista TM, Ribeiro RA, da Silva PM, Camargo RL, Lollo PC, Boschero AC, Carneiro EM. Taurine supplementation improves liver glucose control in normal protein and malnourished mice fed a high-fat diet. *Mol Nutr Food Res*. 2013 Mar;57(3):423-34. doi: 10.1002/mnfr.201200345. Epub 2012 Dec 26.
  46. Cordero P, Milagro FI, Campion J, Martinez JA1. Maternal methyl donors supplementation during lactation prevents the hyperhomocysteinemia induced by a high-fat-sucrose intake by dams. *Int J Mol Sci*. 2013 Dec 16;14(12):24422-37. doi: 10.3390/ijms141224422.
  47. Houin SS, Rozance PJ, Brown LD, Hay WW Jr, Wilkening RB, Thorn SR. Coordinated changes in hepatic amino acid metabolism and endocrine signals support hepatic glucose production during fetal hypoglycemia. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2015 Feb 15;308(4):E306-14. doi: 10.1152/ajpendo.00396.2014. Epub 2014 Dec 16.
  48. Martin Agnoux A, Antignac JP, Boquien CY, David A, Desnots E, Ferchaud-Roucher V, Darmaun D, Parnet P, Alexandre-Gouabaum C. Perinatal protein restriction affects milk free amino acid and fatty acid profile in lactating rats: potential role on pup growth and metabolic status. *J Nutr Biochem*. 2015 Jul;26(7):784-95. doi: 10.1016/j.jnutbio.2015.02.012. Epub 2015 Apr 13.
  49. Roysommuti S, Wyss JM. Perinatal taurine exposure affects adult arterial pressure control. *Amino Acids*. 2014 Jan;46(1):57-72.
  50. Roysommuti S, Thaeomor A, Khimsuksri S, Lerdweeraphon W, Wyss JM.
  51. Perinatal taurine imbalance alters the interplay of renin-angiotensin system and estrogen on glucose-insulin regulation in adult female rats. *Adv Exp Med Biol*. 2013;776:67-80.
  52. Banerjee S, Das RK, Giffear KA, Shapiro BH. Permanent uncoupling of male-specific CYP2C11 transcription/translation by perinatal glutamate. *Nutrients*. 2015 Jan 8;7(1):360-89.
  53. Maliszewski AM1, Gadhia MM, O'Meara MC, Thorn SR, Rozance PJ, Brown LD.
  54. Prolonged infusion of amino acids increases leucine oxidation in fetal sheep. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2012 Jun 15;302(12):E1483-92.

55. Fleming TP, Watkins AJ, Sun C, Velazquez MA, Smyth NR, Eckert JJ. Do little embryos make big decisions? How maternal dietary protein restriction can permanently change an embryo. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2015 Apr 1;284(1):79-91.
56. Zhang S, Regnault TR, Barker PL, Botting KJ, McMillen IC, McMillan CM, Roberts CT, Morrison JL. Placental adaptations in growth restriction.
57. Regnault TR, de Vrijer B, Galan HL, Wilkening RB, Battaglia FC, Meschia G. Umbilical uptakes and transplacental concentration ratios of amino acids in severe fetal growth restriction. *Pediatr Res.* 2013 May;73(5):602-11.
58. Rosario FJ1, Kanai Y, Powell TL, Jansson T. Mammalian target of rapamycin signalling modulates amino acid uptake by regulating transporter cell surface abundance in primary human trophoblast cells. *J Physiol.* 2013 Feb 1;591(Pt 3):609-25.
59. Дубинина Н.В., Холупяк И.Ю. «Антими-кробный потенциал некоторых аминокислот». *Экспериментальная і клінічна медицина. ХДМУ.* 2002; №3.
60. Keunen K, van Elburg RM, van Bel F, Benders MJ. Impact of nutrition on brain development and its neuroprotective implications following preterm birth. *Pediatr Res.* 2015 Jan;77(1-2):148-55. doi: 10.1038/pr.2014.171. Epub 2014 Oct 14.
61. Willems SA, Che L, Dewilde S, Van Hauwaert ML, De Vos M, Huygelen V, Franssen E, Tambuyzer BR, Casteleyn C, Van Cruchten S, Van Ginneken C. Enteric and serological distribution of serotonin and its precursor tryptophan in perinatal low and normal weight piglets. *Animal.* 2014 May;8(5):792-9.
62. Willems S, Che L, De Vos M, Huygelen V, Tambuyzer B, Casteleyn C, Van CS, Zhang K, Van Ginneken C. Perinatal growth restriction is not related to higher intestinal distribution and increased serum levels of 5-hydroxytryptamin in piglets. *J Anim Sci.* 2012 Dec;90Suppl 4:305-7.

*G.O. Yanovska*

**DEFECTS OF THE EXCHANGE OF AMINO ACIDS IN THE PERINATAL ENCEPHALOPATHIES**

**Summary.** Perinatal encephalopathy (PEP) integrates dysfunction of brain structures of different origin, arising in the perinatal period as a result of unfavorable factors in the antenatal period from 28 weeks, during birth and during the first 7 days after birth.

The article shows the main metabolic pathways of amino acids in the body and changes in the metabolism of amino acids under the influence of hypoxia, infection, malnutrition in the perinatal period, placental dysfunction. This shows a connection between disorders of amino acid metabolism and mechanisms of perinatal encephalopathy, as well as the role of individual levels of amino acids (glutamate, serine, methionine, taurine, tryptophan and others) in the formation of perinatal pathology, the value of certain amino acids as the biological markers for specifying the diagnosis and pathogenetic therapy of perinatal pathology.

**Keywords:** perinatal encephalopathy; amino acids.

*A.A. Яновская*

**НАРУШЕНИЕ ОБМЕНА АМИНОКИСЛОТ ПРИ ПЕРИНАТАЛЬНЫХ ЭНЦЕФАЛОПАТИЯХ**

**Резюме.** Перинатальная энцефалопатия (ПЭП) объединяет нарушения функции или структуры головного мозга различного происхождения, возникающих в перинатальный период в результате неблагоприятных факторов в антенатальном периоде, начиная с 28 недель, во время родов и в первые 7 дней после рождения ребенка. В статье приведены основные метаболические пути аминокислот в организме и изменения в обмене аминокислот под действием гипоксии, инфекции, нарушений питания в перинатальном периоде, плацентарной дисфункции. Представленные материалы показывают связь между нарушениями аминокислотного обмена и механизмами развития перинатальных энцефалопатий, а также роль отдельных аминокислот (глутамат, серин, метионин, таурин, триптофан и другие) в формировании перинатальной патологии, значение некоторых аминокислот как биологических маркеров для уточняющей диагностики и патогенетической терапии перинатальной патологии.

**Ключевые слова:** перинатальная энцефалопатия; аминокислоты.

Надійшло до редакції 12.10.2018р.

Підписано до друку 29.11.2018р.

Доступна лабораторна діагностика для вирішення клінічних задач у реальній лікарській практиці



Система менеджменту  
якістю (TQM)



Міжнародні стандарти  
ISO 9001; ISO 15189



Міжнародні системи  
оцінки якості EQAS і RIQAS  
(Великобританія і США)



Актуальні рішення  
клінічних задач



Клінічна верифікація  
результатів



Термінове повідомлення  
про критичні показники



Індивідуальний професійний  
консалтинг 0 800 600 911,  
consult@dila.com.ua

- Інноваційні методики, передові технології
- Обладнання від світових лідерів: Siemens, Abbott, bioMerieux, Beckman Coulter
- Моніторинг виробничих процесів з матеріалами Randox, BIO-RAD, Siemens
- Єдина інформаційна служба 0 800 606 777, 0 800 752 180

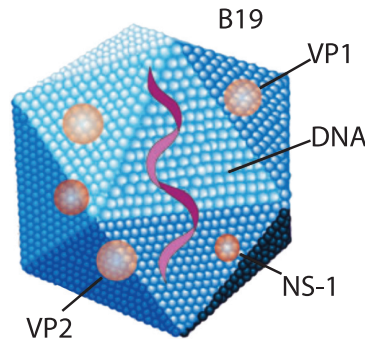
[www.dila.ua](http://www.dila.ua)

Система управління якістю сертифікована відповідно до міжнародного стандарту ISO 9001:2015 № UA228577 від 15.09.2017  
Атестат про акредитацію відповідно до ДСТУ EN ISO15189:2015 (EN ISO 15189: 2012, IDT) № 3M001 від 19.10.2016  
Акредитаційний сертифікат вищої категорії МОЗУ МЗ № 013358 від 23.02.2017 Ліцензія на медичну практику МОЗУ АД № 071280 від 22.11.2012



## Удосконалення діагностики TORCH-інфекцій

Максимальна  
чутливість  
та специфічність



Точність та  
достовірність  
результату



Діагностика  
відповідно  
до світових  
стандартів



### Пропозиції від МЛ ДІЛА

- Парвовірус В19, ПЛР - кількісний (кров, слина, мазок з ротової порожнини, ліквор, хоріон, амніотична рідина, біоптат кісткового мозку)
- Парвовірус В19, IgM (імуноблот)
- Парвовірус В19, IgG (імуноблот)

Індивідуальний професійний консалтинг  
від МЛ ДІЛА Вам забезпечать:

1. Лікарі-експерти МЛ ДІЛА
2. Служба консалтингу:
  - гаряча лінія для лікарів: 0 (800) 21 98 06
  - єдина інформаційна служба 0 (800) 21 78 87, 0 (800) 75 21 80
  - [consult@dila.com.ua](mailto:consult@dila.com.ua)

*В.В. Бойко, Е.М. Климова, Д.А. Евтушенко, Т.И. Кордон, С.В. Сушков*  
*ГУ «Институт общей и неотложной хирургии им. В.Т.Зайцева НАМН Украины», 61103 г. Харьков,*  
*въезд Балакирева, 1*

### ВЗАИМОСВЯЗЬ ГЕНОМНЫХ И ЭПИГЕНОМНЫХ ПРЕДИКТОРОВ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ И СТЕПЕНЬЮ ВЫРАЖЕННОСТИ СПАЕЧНОЙ БОЛЕЗНИ

**РЕЗЮМЕ.** В работе исследовали некоторые геномные и эпигеномные предикторы, взаимосвязанные с риском развития и степенью выраженности спаечной болезни брюшины (СББ).

С помощью методов ПЦР выявлено наличие мутаций участка 807 гена интегрин ITGA2. Показано, что у 65,2% пациентов со СББ имели место одиночные (С-Т) и двойные (Т-Т) замены основания цитозина на тимин в гене интегрин ITGA2.

Серологическое фенотипирование полиморфизма лейкоцитарных аллелей HLA I класса выявило высокую степень частоты встречаемости аллелей I класса HLA A9, A33, B13 в популяционной выборке обследованных пациентов со СББ.

Выявили повышение экспрессии адгезивных молекул CD31+, CD54+, незавершенность эндоцитоза микроорганизмов фагоцитирующими клетками, снижение кислородного резерва фагоцитирующих нейтрофилов, повышение С-реактивного белка, гаптоглобина, снижение антиоксидантного белка церулоплазмина, повышение высокопатогенных циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) и среднемолекулярных пептидов (ПСММ), наличие тканеспецифических аутоантител: к коллагену, эластину, клеткам тонкого и толстого кишечника. Также выявили нарушение экспрессии кластеров дифференцировки CD субпопуляций Т-лимфоцитов – хелперов CD4+ и киллеров CD8+.

У пациентов, у которых в предоперационном периоде выявлен полиморфизм гена интегрин ITGA2 и HLA I класса, снижение барьерной функции фагоцитоза, снижение антиоксидантных факторов, изменения гуморального звена иммунитета и нарушения экспрессии кластеров дифференцировки CD, являются группой риска с высокой вероятностью развития СББ. Для этих пациентов должны быть предусмотрены лечебные мероприятия по профилактике развития спаечной болезни.

**Ключевые слова:** фиброгенез; спаечная болезнь брюшины; мутации гена интегрин ITGA2; полиморфизм аллелей I класса HLA; иммунный дисбаланс.

### ВВЕДЕНИЕ.

Фиброгенез развивается при разнообразных патологических состояниях – заболеваниях органов желудочно-кишечного тракта, при спаечной болезни, кишечной непроходимости, печеночной недостаточности, при сердечно-сосудистых заболеваниях, легочном фиброзе, патологии репродуктивных органов, бесплодии, образовании келоидных рубцов и других метаболических нарушениях при разрастании соединительной ткани [1, 2].

Нарушения структурно-функциональной организации соединительной ткани являются частыми послеоперационными осложнениями, развивающимися у 67-93% пациентов после хирургического лечения, которые клинически проявляются выраженным болевым синдромом при спаечной болезни брюшины и органов малого таза, кишечной непроходимостью и др. [3-7]. Эти изменения соединительной ткани обусловлены комплексом реакций воспаления, активацией коагуляции, фибринолиза и др, которые индуцированы инфекционными антигенами, или являются следствием спорадических мутаций генов-кандидатов факторов адгезии. [8]. Структурно-функциональные нарушения соединительной ткани [5] характери-

зуются склерозированием плазматических мембран, усилением фиброгенеза стромы тканей и сосудистых стенок, нарушениями ремоделирования внеклеточного коллагенового матрикса [9-10].

Развитию фиброза также может способствовать снижение активности металлопротеиназ, которые обеспечивают своевременную деградацию внеклеточного матрикса [11].

Известно, что патогенез фиброзов может быть следствием генетической предрасположенности к структурно-функциональным нарушениям соединительной ткани в виде дисплазии или может развиваться под действием средовых факторов, формирующих патологические метаболические пути во многих органах и системах за счет сочетанного влияния геномных и эпигеномных факторов [12-13].

Важную роль на различных стадиях воспалительного процесса выполняют адгезивные молекулы и интегрины, которые определяют межклеточный сигналинг при ремоделировании межклеточного матрикса [13].

Изучение особенностей иммунного ответа, а также исследования изменений структурной

организации генов-интегринов помогут понять этиологические факторы и механизмы патогенеза спаечной болезни для прогнозирования ее развития и степени тяжести течения [14].

Также недостаточно изучены афферентные и эфферентные звенья иммунореактивности и иммунорезистентности при спаечной болезни, в том числе нарушения адгезивных свойств клеточных рецепторов; изменения барьерной функции фагоцитирующих клеток и показателей гуморального и клеточного звеньев адаптивного иммунитета при спаечной болезни. Факторы иммунорезистентности играют важную роль в формировании воспалительного процесса и могут служить специфическими маркерами развития и распространенности спайкообразования.

**Цель:** исследовать взаимосвязь развития, тяжести и распространенности спаечной болезни с частотой встречаемости мутации гена тромбоцитарного интегринна ITGA2 и нарушением различных звеньев иммунореактивности.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

В работе использованы образцы ДНК, выделенные из лейкоцитов периферической крови, форменные элементы и сыворотка крови пациентов со спаечной болезнью брюшины (СББ). Общее количество обследованных пациентов составило 43 человека. Возраст пациентов составил от 33 до 60 лет. Степень выраженности спаечной болезни брюшины (I – IV) определялась симптомокомплексом - наличием послеоперационного келлоидного рубца, боли, послеоперационной вентральной грыжи, острой кишечной непроходимости, частичной кишечной непроходимости и тяжести течения.

Выявление мутаций гена ITGA-2 в геноме пациентов определяли методом ПЦР с помощью набора реагентов для амплификации «SNP-ЭКС-ПРЕСС-РВ». Экстракция геномной ДНК проводилась из лейкоцитов периферической крови с использованием реагента «ДНК-экспресс-кровь». ПЦР проводили на ДНК-амплификаторе в реальном времени.

Определение фенотипа лейкоцитарных антигенов HLA I класса – А, В проводили методом комплементзависимой цитотоксичности с помощью панели гистотипирующих сывороток.

Функциональную активность нейтрофильных гранулоцитов периферической крови оценивали методом световой микроскопии по показателям фагоцитарного индекса (ФИ), фагоцитарного числа (ФЧ) и индекса завершенности фагоцитоза (ИЗФ).

Окислительно-восстановительную активность нейтрофилов оценивали методом световой микроскопии в тесте восстановления нитросинего

тетразолия (НСТ-тест).

Концентрацию циркулирующих иммунных комплексов и константу ЦИК определяли методом осаждения в градиенте полиэтиленгликоля с последующей спектрофотометрией.

Содержание пептидов средней молекулярной массы определяли методом осаждения раствором ТХУ с последующей спектрофотометрией.

Лимфоцитотоксичность определяли методом Тerasaki по цитотоксическому эффекту ауто-сыворотки на аутолимфоциты в присутствии комплемента.

Содержание С-реактивного белка определяли методом агглютинации в латекс-тесте. Количественное определение проводили методом многократных разведений сыворотки крови и повторных реакций агглютинации.

Содержание серогликоидов, церулоплазмينا и гаптоглобина определяли методом спектрофотометрии.

Определение концентрации органоспецифических антител к коллагену и эластину проводили методом иммуноферментного анализа.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Для выяснения возможной взаимосвязи между развитием, выраженностью СББ и генетическим полиморфизмом гена интегринна ITGA2 исследовали частоту встречаемости единичных и двойных замен оснований цитозина (С) на тимин (Т).

В первую подгруппу были объединены 15 пациентов из 43 со СББ, у которых не выявили мутаций гена тромбоцитарного интегринна ITGA2. У этих 15 пациентов, которые составили 34,8% от всей обследованной выборки пациентов со спаечной болезнью брюшины (СББ), участок гена 807 тромбоцитарного интегринна был представлен двумя нуклеотидами цитозина (С-С).

Во вторую подгруппу были объединены 24 обследованных пациента со СББ, у которых выявили единичную замену оснований цитозина на тимин (С-Т), что составило 55,8% (наибольшая частоту встречаемости мутации гена ITGA2 в данной популяционной выборке).

Замена обеих оснований цитозина (С-С) на тимин – (Т-Т) в гене интегринна ITGA2 была выявлена у 4 пациентов, что составило 9,4% от общего числа обследованных пациентов со СББ. Эти пациенты составили третью подгруппу.

Следовательно, из всей обследованной выборки пациентов со СББ у лиц второй и третьей подгруппы, что составило 65,2% из всей популяционной выборки больных со СББ, имелись различные типы мутаций замены оснований цитозина на тимин, а у остальных 34,8% не были выяв-



лены мутации данного гена.

Анализировали возможную взаимосвязь между характером гетерогенности симптомов и тяжестью СББ с одной стороны, и генетическим полиморфизмом гена интегрин ITGA2 с другой стороны, во всех трех подгруппах пациентов со СББ.

Выявлена взаимосвязь между степенью выраженности СББ и характером генного полиморфизма гена интегрин ITGA2.

У 15 пациентов первой подгруппы с нормальным участком 807 гена ITGA2 степень выраженности симптомов спаечной болезни была различна: у 11 пациентов из них была легкая степень выраженности и распространенности СББ; у 4 пациентов выявлена высокая степень тяжести симптомов и распространенности спаечной болезни.

Выявили высокую гетерогенность клинических симптомов спаечной болезни у 24 пациентов второй подгруппы с единичной заменой цитозина на тимин С-Т в участке 807 гена интегрин ITGA2. У 7 пациентов второй подгруппы с одиночной заменой С-Т выявили не более одного симптома спаечной болезни. У 13 пациентов этой подгруппы отмечено слабое проявление 2-3 симптомов спайкообразования; и только у 4 пациентов этой подгруппы выявили высокую степень тяжести и распространенности спайкообразования.

В третьей подгруппе пациентов с двойной заменой цитозина на тимин (Т-Т) выявили максимальную выраженность признаков спаечной болезни, которая сопровождалась выраженными абдоминальными болями у 3 пациентов из 4, а у 1 пациента степень выраженности симптомов была незначительна.

Анализ встречаемости аллелей лейкоцитарных антигенов HLA I-го класса А (A1, A9, A29,

A31, A33,) и В (B7, B13, B16, B56) в популяционной выборке пациентов с различной степенью выраженности спаечной болезни брюшины выявил генетическую гетерогенность частоты встречаемости этих аллелей.

У обследованных больных со СББ выявили различную частоту встречаемости аллелей лейкоцитарных антигенов I класса HLA А и В. Превалировало наличие аллелей A33, A9 и B13. Частота встречаемости гапло- и диплотипов аллелей лейкоцитарных антигенов I класса HLA A33 составила 47%, частота встречаемости гапло- и диплотипов аллелей HLA A9 составила 45%, которые наиболее часто выявляли у обследованных больных с высокой степенью выраженности симптомов спаечной болезни. Встречаемость гапло- и диплотипов HLA B13 была выявлена у 35% обследованных, а аллели B56 выявили у 24% обследованных в популяционной выборке. Симптомы спайкообразования у пациентов с преобладанием диплотипов HLA B13 были менее выражены.

Анализ результатов исследования генетических предикторов развития СББ – точковых мутаций участка 807 гена интегрин ITGA2 и генного полиморфизма лейкоцитарных антигенов HLA I класса А и В свидетельствуют о взаимосвязи генетических предикторов развития и распространенности спаечной болезни.

Анализ показателей иммунорезистентности свидетельствует о их выраженной дисфункции у всех обследованных пациентов со СББ.

Результаты исследования барьерной функции фагоцитоза нейтрофилов выявили недостаточность ферментативной активности лизосомальных ферментов – гранзимов, что проявлялось незавершенным эндоцитозом бактериальных антигенов фагоцитирующими клетками.

Таблица 1.

**Показатели фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов в подгруппах пациентов со спаечной болезнью брюшины**

Показатели	Исследуемые группы			
	Референтные значения	1 подгруппа участок гена интегрин (С-С)	2 подгруппа участок гена интегрин (С-Т)	3 подгруппа участок гена интегрин (Т-Т)
Фагоцитарный индекс, %	73,1±5,0	83,8±4,6	79,26±2,9	88,3±2,5*
Фагоцитарное число	3,6±0,1	3,1±0,5	3,08±0,8	4,31±0,6*
Индекс завершенности фагоцитоза	1,1±0,02	1,08±0,01	0,97±0,1*	0,94±0,1*

Примечания: \* – отличия достоверны от референтных значений (p≤0,05).

В таблиці 1 представлені дані, характеризуючі різні стадії кислородонезалежного фагоцитозу: хемотаксис, адгезію, поглинання антигену фагоцитуючими клітками і наступний процес ендозитозу. У пацієнтів першої підгрупи, у яких відсутні мутації гена тромбоцитарного інтегрину ITGA2, не виявлено порушень всіх досліджуваних стадій фагоцитозу. У більшості обстежених пацієнтів, які мають мутації гена ITGA2 (С-Т) і (Т-Т), виявлено підвищену поглинальну функцію фагоцитуючих нейтрофілів за рахунок збільшення фагоцитарного числа. Во другій підгрупі спостерігали варіабельність показника фагоцитарного числа ( $3,08 \pm 0,8$ ), який характери-

зує поглинальну здатність нейтрофілів, що свідчить про активацію рецепторів фагоцитів. У пацієнтів другої і третьої підгруп з СББ виявлено достовірне зниження переварювальної функції нейтрофільних гранулоцитів, у яких ендозитоз був достовірно знижений – ( $0,97 \pm 0,1$ ) і ( $0,94 \pm 0,1$ ) відповідно за рахунок дисфункції лізосомальних ферментів -гранзимів.

Аналіз функціонального стану антигенпрезентуючих кліток в кислородозалежному фагоцитозі, який оцінювали за показником НСТ-тесту, виявив зниження індексу стимуляції у всіх хворих з СББ за рахунок багаторазового підвищення спонтанних окислювальних реакцій і зниження індукованих (табл.2).

Таблиця 2.

**Показатели НСТ-теста в подгруппах пациентов со спаечной болезнью брюшины**

Показатели	Исследуемые группы			
	Референтные значения	1 подгруппа участок гена интегрин (С-С)	2 подгруппа участок гена интегрин (С-Т)	3 подгруппа участок гена интегрин (Т-Т)
НСТ спонтанный	$9,0 \pm 0,5$	$37,3 \pm 5,4^*$	$38,45 \pm 4,7^*$	$46,0 \pm 9,8^*$
НСТ индуцированный	$70,0 \pm 10,0$	$53,5 \pm 7,2$	$61,5 \pm 5,3$	$63,2 \pm 9,8$
СЦК спонтанный	$1,5 \pm 0,3$	$0,54 \pm 0,1^*$	$0,58 \pm 0,1^*$	$0,68 \pm 0,2^*$
СЦК стимулированный	$1,5 \pm 0,3$	$0,98 \pm 0,2^*$	$1,05 \pm 0,1^*$	$1,43 \pm 0,4$
Индекс стимуляции	$8,0 \pm 2,0$	$1,57 \pm 0,3^*$	$1,88 \pm 0,3^*$	$1,57 \pm 0,4^*$

Примечания: \* - отличия достоверны от референтных значений ( $p \leq 0,05$ ).

Спостерігали дисбаланс окислювальних реакцій в кислородозалежному фагоцитозі, у якому судили про спонтанну і індуковану окислювальну здатність нейтрофілів з участком НАДФН системи і активних форм кисню (АФК) від ( $53,5 \pm 7,2$ ) до ( $66,3,2 \pm 0,8$ ).

Отже, однією з причин несостойливості ендозитозу фагоцитів було змінення резервної окислювальної функції ферментів антигенпрезентуючих фагоцитуючих кліток в кислородозалежному фагоцитозі (табл.2).

Таблиця 3.

**Содержание белков острой фазы в сыворотке крови в подгруппах пациентов со спаечной болезнью брюшины**

Показатели	Исследуемые группы			
	Референтные значения	1 подгруппа участок гена интегрин (С-С)	2 подгруппа участок гена интегрин (С-Т)	3 подгруппа участок гена интегрин (Т-Т)
С-реактивный белок	$3,0 \pm 1,5$	$13,5 \pm 8,1^*$	$16,8 \pm 8,8^*$	$19,2 \pm 13,14^*$
Гаптоглобин	$1,09 \pm 0,8$	$1,66 \pm 0,5^*$	$1,26 \pm 0,26^*$	$2,51 \pm 0,41^*$
Церулоплазмин	$315,0 \pm 75,0$	$154,1 \pm 16,5^*$	$124,1 \pm 8,86^*$	$122,03 \pm 21,99^*$
Серогликоиды	$4,5 \pm 0,5$	$4,75 \pm 2,1$	$3,78 \pm 8,8^*$	$2,02 \pm 0,43^*$

Примечания: \* - отличия достоверны от референтных значений ( $p \leq 0,05$ ).

Изучали острофазовые белки, которые принимают участие в регуляторной адаптивной функции иммунитета, являются маркерами стадии и степени воспалительного процесса, выполняют рецепторную, транспортную и антиоксидантную функцию.

У всех обследованных пациентов со СББ выявлено достоверное многократное увеличение С-реактивного белка, его максимальный уровень отмечен в группе пациентов со СББ, имеющих двойную замену цитозина на тимин (Т-Т). В этой

же подгруппе 3 отмечали максимальное содержание гаптоглобина – железотранспортного белка, при этом церулоплазмин – (антиоксидант, белок, обеспечивающий транспорт меди) в данной группе был самым низким.

Сывороточные гликопротеины серогликоиды в первой (С-С) и второй (С-Т) подгруппах и гаплотипом соответствовали референтным значениям, а в подгруппе 3 с двойной заменой цитозина на тимин (Т-Т) они снижены более чем в два раза.

Таблица 4.

**Показатели гуморального иммунитета в подгруппах пациентов со спаечной болезнью брюшины**

Показатели	Исследуемые группы			
	Референтные значения	1 подгруппа участок гена интегрин (С-С)	2 подгруппа участок гена интегрин (С-Т)	3 подгруппа участок гена интегрин (Т-Т)
ЛЦТ, %	31,6±4,2	57,1±3,95*	47,1±2,05*	51,25±4,4*
ЦИК, ед.Е.	75,0±18,0	199,75±18,3*	151,29±15,05*	190,2±41,7*
Константа ЦИК	1,3±0,2	1,01±0,03*	0,99±0,03*	1,02±0,07*
ПСММ, ед.Е.	0,210±0,02	0,404±0,08*	330,5±0,09*	0,323±0,02*

Примечания: \* - отличия достоверны от референтных значений ( $p \leq 0,05$ ).

Для всех пациентов характерным было увеличение уровня лимфоцитотоксических антител, в некоторых случаях эта величина достигала 62%. Концентрация циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) и пептидов средней молекулярной массы (ПСММ) была выше контроля в среднем в 3 и 1,5 раза соответственно. Максимально высокое содержание ПСММ отмечено в первой подгруппе (С-С) – (0,404±0,008) ед.Е. Низкая константа ЦИК выявлена во всех обследованных пациентов со СББ.

Исследовали возможное наличие мощных факторов тканевой и клеточной деструкции – аутоиммунные антитела, специфичные к компонентам внеклеточного матрикса – эластину и коллагену, и клеточным мембранам кишечника.

Выявили определенный репертуар аутоиммунных антител к 2 компонентам внеклеточного матрикса и к антигенным эпитомам клеток тонкой и толстой кишки. У больных со СББ первой подгруппы, не имевших мутаций исследуемого гена, концентрация аутоантител к коллагену, эластину была повышена более чем в 10 раз. У пациентов второй подгруппы с единичной заменой цитозина на тимин (С-Т), выявили повышенное содержание аутоантител только к одному компоненту межклеточного матрикса – к коллагену, и к эпитомам клеток толстой кишки. У пациентов третьей подгруппы с двойной заменой цитозина на тимин (Т-Т) в гене интегрин выявили максимальное увеличение содержания сывороточных аутоантител к коллагену (табл.5).

Спектр и концентрация аутоантител в подгруппах пациентов со спаечной болезнью брюшины

Показатели	Референтные значения	Исследуемые группы		
		1 подгруппа участок гена интегрина (С-С)	2 подгруппа участок гена интегрина (С-Т)	3 подгруппа участок гена интегрина (Т-Т)
ААТ к коллагену	0,002±0,001	0,029±0,025*	0,028±0,002*	0,079±0,031*
ААТ к эластину	0,002±0,001	0,034±0,025+	0,007±0,004	0,033±0,022*
ААТ к клеткам тонкой кишки	0,002±0,001	0,007±0,005	0,004±0,003	0,005±0,003
ААТ к клеткам толстой кишки	0,002±0,001	0,002±0,001	0,015±0,009*	0,001±0,001

Примечания: \* - отличия достоверны от референтных значений ( $p \leq 0,05$ ).

Изучали функциональное состояние Т-лимфоцитов по изменению экспрессии кластеров дифференцировки CD.

У пациентов без мутации гена тромбоцитарного интегрина С-С в первой подгруппе экспрессия молекул CD2+ на активированных Т-лимфоцитах была достоверно повышена относительно референтных значений, и превышала более чем в 3 раза их уровень в подгруппах пациентов с мутациями. Экспрессия молекул CD3+ в популяции общих Т-лимфоцитов, у пациентов со СББ 1 подгруппы (С-С) напротив, была в два раза ниже, чем в подгруппах 2 (С-Т) и 3 (Т-Т). Во второй подгруппе (С-Т) отмечен выраженный дефицит CD4-

зитивных Т-хелперов. Максимальное снижение CD8-позитивных киллерных клеток отмечено в подгруппе 1 (С-С). Выявили разнонаправленные изменения функциональной активности Т-лимфоцитов – хелперов и киллеров у пациентов, имеющих мутации гена тромбоцитарного интегрина, и в группе пациентов с отсутствием мутации исследуемого гена.

В первой подгруппе без мутации гена интегрина выявили значительное увеличение кластеров дифференцировки CD2+-Т-активированных лимфоцитов, резкое снижение общих CD3+-Т-лимфоцитов, и низкую экспрессию Т-киллерных клеток CD8+.

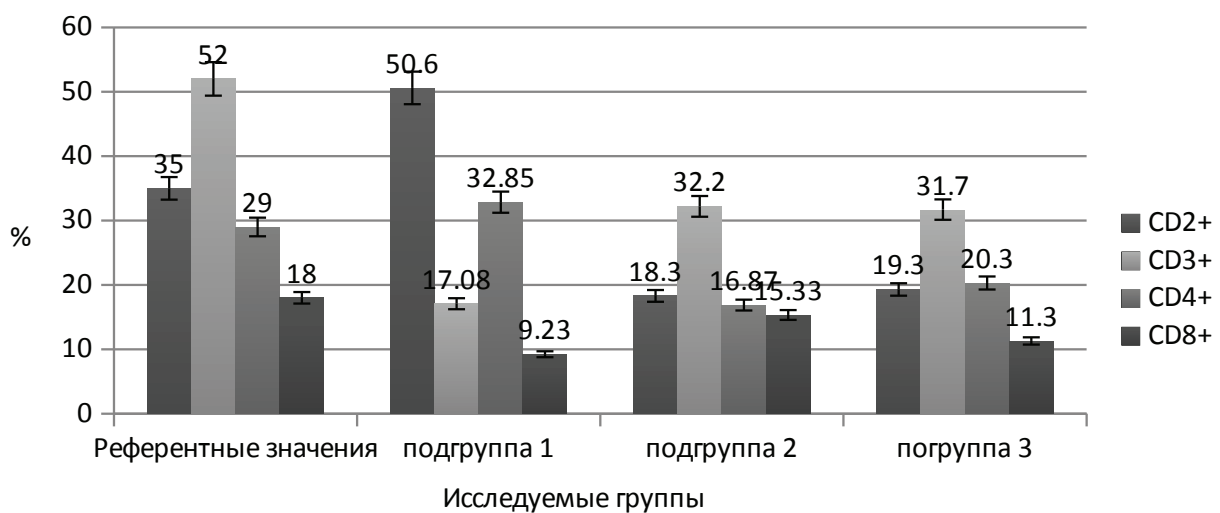


Рис. 2. Соотношение субпопуляций Т-лимфоцитов, экспрессирующих различные кластеры у пациентов трех подгрупп со спаечной болезнью брюшины

Таким образом, увеличение субпопуляции активированных CD2<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов, достаточный уровень Т-хелперов и снижение экспрессии CD3<sup>+</sup> может свидетельствовать об нарушении функций Т-хелпер-зависимого антителообразования и изменению дифференцировки плазматических В-клеток.

Во второй и третьей подгруппах у пациентов с выявленными мутациями (С-Т и Т-Т) гена

ITGA2 наблюдали угнетение экспрессии рецепторов CD2<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> субпопуляций Т-лимфоцитов. Резкое игнибирование киллерной субпопуляции в этих подгруппах может снижать функциональную активность Т-системы иммунитета в процессах деградации и ремоделировании межклеточного матрикса, а снижение активированных Т-лимфоцитов способствует нарушению межклеточного сигналинга иммунокомпетентных клеток.

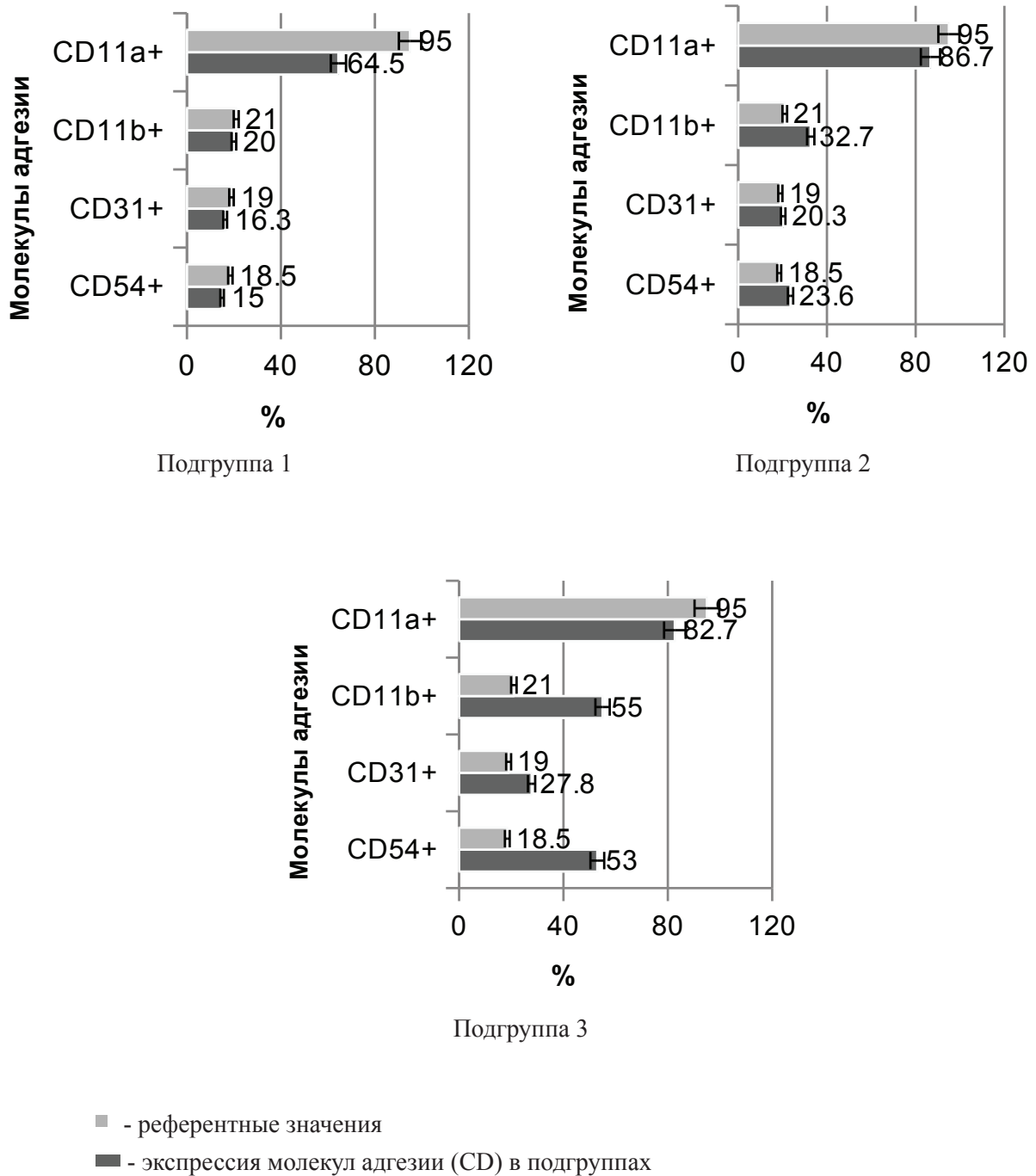


Рис. 3. Экспрессия молекул адгезии у пациентов трех подгрупп со спаечной болезнью брюшины

Об усилении адгезивных свойств иммунокомпетентных клеток судили по увеличению кластеров дифференцировки CD54+ и CD31+. Экспрессия специфических доменов на максимально активированных CD11a+ и CD11b+ коррелировала с многократным компенсаторным увеличением фагоцитарного числа в третьей подгруппе, что свидетельствует о нарушении соотношения между адгезивной и поглотительной способностью с одной стороны, и недостаточности переваривающей способности с другой стороны, приводящей к несостоятельности фагоцитоза.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Данные, полученные в результате сравнительного анализа, о роли геномных и эпигеномных факторов в развитии спаечной болезни и выраженности ее клинических симптомов свидетельствует о их различном вкладе в эти процессы.

Результаты исследования показали, что у 34,8 % обследованных пациентов со СББ, которых объединили в первую подгруппу, не выявлены мутации участка 807 гена интегрин ITGA2. У 55,8 % всех обследованных пациентов со СББ, объединенных во вторую подгруппу, выявили единичную замену оснований цитозина на тимин (С-Т), что представляло наибольшую частоту встречаемости точковых мутаций в обследованной популяционной выборке. Третья подгруппа включала пациентов, у которых выявили замену обеих оснований цитозина (С-С) на тимин – (Т-Т) в гене интегрин ITGA2 – 9,4% от общего числа обследованных пациентов со СББ.

Общая частота встречаемости всех типов мутаций гена интегрин ITGA2 у обследованных пациентов составила 65,2%, что свидетельствует о высоком уровне и значимости геномных изменений в данной популяционной выборке.

Степень выраженности симптомов СББ у пациентов с мутациями гена интегрин и без них она была различной. В первой подгруппе у 26,7% пациентов в отсутствие мутаций гена интегрин ITGA2 выявили выраженные клинические симптомы СББ. Во второй подгруппе пациентов с одиночными заменами оснований цитозина на тимин (С-Т) у 83,4% выявили незначительную выраженность симптомов СББ, а у 16,6% пациентов отмечали выраженные симптомы распространенной спаечной болезни. В третьей подгруппе с двойной заменой основания цитозина на тимин (Т-Т) в гене интегрин ITGA2 у 25% наблюдали незначительные проявления СББ, а у 75% - выраженную манифестацию симптомов спаечной болезни.

Следовательно, нет жесткой взаимосвязи с мутациями гена интегрин ITGA2 с выраженностью спаечной болезни.

Наряду с выявленными точковыми мутациями тромбоцитарного интегрин ITGA2, была установлена высокая степень полиморфизма лейкоцитарных аллелей HLA I класса у всех обследованных пациентов со СББ в популяционной выборке. Из всех встречающихся полиморфных аллелей отмечали высокую степень частоты встречаемости аллелей HLA I класса A9, A33 и B13 во всех подгруппах.

Независимо от наличия точковых мутаций гена интегрин, которые выявили у 65,2% всех обследованных, наблюдали выраженные изменения показателей иммунореактивности. Характер этих изменений проявлялся повышением экспрессии адгезивных молекул CD31+, CD54+, незавершенностью эндоцитоза фагоцитирующими клетками, снижением кислородного резерва фагоцитирующих нейтрофилов, повышением С-реактивного белка, гаптоглобина, снижением антиоксидантного белка церулоплазмينا, увеличением содержания высокопатогенных циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) и среднемoleкулярных пептидов (ПСММ), наличием тканеспецифических аутоантител: к коллагену, эластину, клеткам тонкой и толстой кишки. Выявленные нарушения экспрессии кластеров дифференцировки CD субпопуляций Т-лимфоцитов – хелперов CD4+ и киллеров CD8+ свидетельствуют о наличии выраженного иммунодефицита в Т-клеточном звене иммунитета у всех пациентов со спаечной болезнью.

Что касается особенностей проявления симптомов СББ, то в третьей подгруппе с двойной заменой цитозина на тимин (Т-Т) у пациентов были выявлены грубые рубцы после аппендэктомии, у них также наблюдали выраженные изменения гуморального звена иммунитета и высокое содержание антител к эластину.

Механизмы, лежащие в основе нарушения иммунорезистентности под действием факторов окружения, могут быть связаны с изменением гистонового кода и характера метилирования генов иммунного ответа. Однако, полученные нами результаты свидетельствуют о полигенной природе спаечной болезни и она может быть детерминирована не только генетическими, но и эпигеномными факторами, такими как регуляция экспрессии генома путем метилирования ДНК определенных сайтов или путем выбора адаптивной стратегий формирования иммунного ответа на определенные экзо- и эндогенные антигены [15].

Генетические нарушения, вызванные изменением первичной структуры гена, могут существенно изменять кинетику адгезивные свойства тромбоцитов. Повышение скорости адгезии тромбоцитов может быть связано не только с полиморфизмом генетических

маркеров С807Т, но и с другими эпигеномными нарушениями, затрагивающими различные звенья резистентности и иммуногенетический контроль. В некоторых случаях в значительной степени эпигеномные факторы, такие как метилирование ДНК, влияют на экспрессию гена. Известно, что в геноме с максимальной частотой происходит метилирование по цитозину (С) [15]. Каждый ген вследствие небольших делеций может находиться в разных полиморфных состояниях, в которых активность белковых продуктов будет различной. В том случае, если происходят мутации поверхностных рецепторов интегринов, они могут быть элиминированы Т-киллерными клетками CD8+. В некоторых случаях в тканях могут накапливаться чужеродные белки после прохождения процессинга в фагоцитирующих клетках, что может приводить к увеличению количества клеток с незавершенным фагоцитозом [16].

Активация белков острой фазы и различных медиаторов воспаления, в том числе цитокинов, приводит к фиброгенному повреждающему ответу. Это может приводить к увеличению объема коллагенового матрикса [17].

Возникновение и развитие спаечной болезни в разной степени взаимосвязано с геномными и эпигеномными предикторами, а выраженность и распространенность спайкообразования в большой степени зависит от нарушения иммунорезистентности и в некоторой степени с наличием генного полиморфизма факторов клеточной адгезии.

У пациентов, у которых в предоперационном периоде выявлен полиморфизм гена интегрин ITGA2 и HLA I класса, снижение барьерной функции фагоцитоза, снижение антиоксидантных

факторов, изменения гуморального звена иммунитета и нарушения экспрессии кластеров дифференцировки CD, являются группой риска с высокой вероятностью развития СББ. Для этих пациентов должны быть предусмотрены лечебные мероприятия по профилактике развития спаечной болезни.

#### ВЫВОДЫ.

1. Геномными факторами риска развития СББ является наличие полиморфизма точковых мутаций гена интегрин ITGA2. У 34,8% пациентов со спаечной болезнью брюшины развитие данной патологии может быть сопряжено не с точковыми мутациями, а другими эпигеномными факторами.

2. Выявлена взаимосвязь полиморфизма лейкоцитарных антигенов гистосовместимости I класса - HLA A9, A33, B56, B13 с высоким риском развития СББ.

3. К эпигеномным факторам, ассоциированным с риском развития СББ, относятся изменения экспрессии генов молекул адгезии (CD31+, CD54+), показателей иммунорезистентности – снижение ферментативной активности нейтрофильных гранулоцитов, наличие органоспецифических аутоантител, выраженный иммунодефицит в Т-клеточном звене, повышение цитотоксических факторов сыворотки крови – ЦИК, ПСММ, ЛЦТ.

4. Обнаружена взаимосвязь степени выраженности СББ с увеличением концентрации С-реактивного белка, гаптоглобина, и снижением церулоплазмينا, повышением высокопатогенных ЦИК и ПСММ, наличием тканеспецифических аутоантител: к коллагену, эластину, клеткам тонкого и толстого кишечника, снижением экспрессии кластеров дифференцировки CD субпопуляций Т-лимфоцитов – хелперов CD4+ и киллеров CD8+.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tommaso S, Massari S, Malvasi A, Vergara D, Maffia M, Greco M, Tinelli A. Selective genetic analysis of myoma pseudocapsule and potential biological impact on uterine fibroid medical therapy. *Expert Opin Ther Targets*. 2015. – Vol.19. – №:1. – P.7-12.
2. Gressner O.A., Gressner A.M. Connective tissue growth factor: a fibrogenic master switch in fibrotic liver diseases // *Liver Int.*— 2008.— Vol. 28.— P. 1065-1079.
3. Филенко Б.П., Лазарев С.М. Этиопатогенез спайкообразования // *Вестник хирургии*, 2009. Том 168, №3. С.116-118.
4. Исаева Н. В., Дралюк М. Г. Современный взгляд на клиническое значение эпидурально-го фиброза после поясничных дискэктомий // *Хирургия позвоночника*. 2010. №1. С.35-45.
5. Назарова М. В., Кириллова С. В. Идиопатический фиброз легких описание болезни и клинический случай // *VetPharma*. 2014. №4 (20). С.32-38.
6. Дубровщик О. И., Мармыш Г. Г., Довнар И. С., Фридман К. М., Казеннов С. С. Спаечная кишечная непроходимость: тактика, лечение, профилактика рецидивов // *Журнал ГрГМУ*. 2012. №2 (38). С.20-23.
7. Ткаченко Л. В., Михин И. В., Минаева Е. А. Профилактика и лечение спаечной болезни малого таза при трубно-перитонеальном бесплодии // *Вестник ВолГМУ*. 2010. №1 (33). С.63-66.
8. Жалялов А.С., Баландина А.Н., Купраш А.Д.,

- Шривастава А., Шибекко А.М. Современные представления о системе фибринолиза и методах диагностики ее нарушений // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии, 2017. – Том 16. – № 1. – С. 69–82.
9. Plenz GA, Deng MC, Robenek H, Volker W (2003). «Vascular collagens: spotlight on the role of type VIII collagen in atherogenesis». *Atherosclerosis* 166 (1): 1-11. DOI:10.1016/S0021-9150(01)00766-3. PMID 12482545
  10. Смирнов И.Е., Кустова О.В., Сорокина Т.Е., Кучеренко А.Г. Маркеры фиброзирования при хронической бронхолегочной патологии у детей // Российский педиатрический журнал. 2015. №1. С.14-20.
  11. Badra G., Lotfy M., El(Refaie A. et al. Significance of serum matrix metalloproteinase(9 and tissue inhibitor of metallo( proteinase(1 in chronic hepatitis C patients // *Acta Microbiol. Immunol. Hung.*— 2010.— Vol. 57, N 1.— P. 29-42.
  12. Аллергические, коллагеновые и аутоиммунные заболевания // Диспротеинемии / Пер. с болг. (авт. коллектив: Вапцаров И. Иомтов М., Савов С., Дюкмеджиев И., Эшкенази М.). – София: Медицина и физкультура, 1978. – С. 285–295.
  13. Строев Ю.И., Чурилов Л.П., Агапов М.М. и др. Клиническая патофизиология раннего метаболического синдрома: патогенетическая роль юношеского диспитуитаризма, дисплазий соединительной ткани и аутоиммунного тиреоидита // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* – 2011. – № 3. – С. 3–15.
  14. Yann Ch., Kanaji S., Jacquelin B., Chang M., Nugent D. J., Kunicki Th. J. Transcriptional and epigenetic regulation of the integrin collagen receptor locus ITGA1-PELO-ITGA2 // *Biochim Biophys Acta.* 2007. – Vol. 1769. – N 9-10. – P. 546–558.
  15. Ванюшин Б.Ф. Эпигенетика сегодня и завтра // *Вавиловский журнал генетики и селекции,* 2013, том 17, No 4/2. С. 805 -832.
  16. Цебржинский О.И. Некоторые аспекты антиоксидантного статуса // *Физиология и патология перекисного окисления липидов, гемостаза и иммуногенеза.* - Полтава, 1992. -С. 120-155.
  17. Santamato A., Fransvea E., Dituri F. et al. Hepatic stellate cells stimulate HCC cell migration via laminin-5 production // *Clin. Sci. (Lond).* — 2011. — Vol. 121. — P. 159-168.

*В.В. Бойко, О.М. Климова, Д.А. Євтушенко, Т.І. Кордон, С.В. Сушков*

### ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ГЕНОМНИХ І ЕПІГЕНОМНИХ ПРЕДИКТОРІВ З РИЗИКОМ РОЗВИТКУ І СТУПЕНЕМ ВИРАЖЕНОСТІ СПАЙКОВОЇ ХВОРОБИ

**РЕЗЮМЕ.** В роботі досліджували деякі геномні і епігеномні предиктори, взаємопов'язані з ризиком розвитку і ступенем вираженості спайкової хвороби очеревини (СХО).

За допомогою методів ПЛР виявлено наявність мутацій ділянки 807 гена інтегрину ITGA2. Показано, що у 65,2% пацієнтів з СХО мали місце поодинокі (С-Т) і подвійні (Т-Т) заміни цитозину на тимін в гені інтегрину ITGA2.

Серологічне фенотипування поліморфізму лейкоцитарних алелей HLA I класу виявило високу ступінь частоти зустрічальності алелів I класу HLA A9, A33, B13 в популяційній вибірці обстежених пацієнтів зі СХО.

Виявили підвищення експресії адгезивних молекул CD31 +, CD54 +, незавершеність ендоцитозу мікроорганізмів фагоцитуючими клітинами, зниження кисневого резерву фагоцитуючих нейтрофілів, підвищення С-реактивного білка, гаптоглобіну, зниження антиоксидантного білка церулоплазміну, підвищення високопатогенних циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) і середньомолекулярних пептидів (ПСММ), наявність тканиноспецифічних аутоантитіл: до колагену, еластину, клітин тонкого і товстого кишечника. Також виявили порушення експресії кластерів диференціювання CD субпопуляцій Т-лімфоцитів - хелперів CD4 + і кілерів CD8 +.

Пацієнти, у яких в передопераційному періоді виявлено поліморфізм гена інтегрину ITGA2 і HLA I класу, зниження бар'єрної функції фагоцитозу, зниження антиоксидантних факторів, зміни гуморальної ланки імунітету і порушення експресії кластерів диференціювання CD, є групою ризику з високою ймовірністю розвитку СХО. Для цих пацієнтів мають бути передбачені лікувальні заходи з профілактики розвитку спайкової хвороби.

**Ключові слова:** фіброгенез; спайкова хвороба очеревини; мутації гена інтегрину ITGA2; поліморфізм алелів I класу; HLA імунний дисбаланс.



*V.V. Boyko, O.M. Klimova, D.A. Evtushenko, T.I. Kordon, S.V. Sushkov*

**INTERCONNECTION OF GENOMIC AND EPIGENOMIC PREDICTORS ASSOCIATED WITH THE RISK OF DEVELOPMENT AND THE SEVERITY OF ADHESIVE PERITONEAL DISEASE**

**SUMMARY.** Some genomic and epigenomic predictors associated with the risk of development and the severity of adhesive peritoneal disease (APD) were investigated in this work.

The presence of mutations in region 807 of the integrin ITGA2 gene was detected using PCR methods. It was shown that 65.2% of patients with APD had single (C-T) and double (T-T) cytosine substitutions for thymine.

Serological phenotyping of polymorphism of leukocyte alleles HLA class I revealed a high degree of frequency of occurrence of class I alleles HLA A9, A33, B13 in a population sampling of patients with APD.

Increased adhesive molecules CD31 +, CD54 +, endocytosis incompleteness of microorganisms by phagocytic cells, reduced oxygen reserve of phagocytic neutrophils, increased acute-phase proteins - C-reactive protein, haptoglobin, reduced antioxidant protein ceruloplasmin, increased levels of immune circulating complexes and medium molecular weight peptides, the presence of tissue-specific autoantibodies: to collagen, elastin, cells of the small and large intestines.

Violation of the expression of CD differentiation clusters of helper and killer subpopulations of T-lymphocytes was also detected.

Patients who have identified ITGA2 and HLA class I integrin gene polymorphism in the preoperative period, reduced phagocytosis barrier function, reduced antioxidant ceruloplasmin, humoral sensitization, and impaired expression of CD differentiation clusters are at high risk of developing APD. For these patients, therapeutic measures should be taken to prevent the development of adhesive disease.

**Key words:** fibrogenesis; peritoneal commissural disease; integrin ITGA2 gene mutations; HLA class I alleles polymorphism; immune imbalance.

Надійшло до редакції 01.12.2018р.

Підписано до друку 21.12.2018р.

С.В. Лесняк<sup>1</sup>, Ю.Б. Гречанина<sup>2</sup>, Л.В. Молодан<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Межобластной специализированный медико-генетический центр – центр редких (орфанных) заболеваний, Харьков, Украина

<sup>2</sup>Харьковский национальный медицинский университет

## КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ СОЧЕТАНИЯ РЕДКОГО НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА ЛИПИДОВ (ДЕФИЦИТ $\beta$ -ЛИПОПРОТЕИНЛИПАЗЫ), ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ И МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ

**Резюме:** в статье представлен случай синтропии орфанного обменного заболевания (дефицит  $\beta$ -липопротеинлипазы) с нарушением фолатно-метионинового цикла (гипергомоцистеинемия) и нарушением энергетического обмена (митохондриальная дисфункция).

**Ключевые слова:** липидный обмен; фолатно-метиониновый цикл; митохондриальная дисфункция.

**Введение.** Наследственные болезни обмена липидов – обширная группа заболеваний, возникающих в результате нарушения одной из стадий синтеза, транспорта и деградации липопротеинов, в состав которых входят все основные плазменные липиды — триглицериды (ТГ), фосфолипиды, холестерол (ХС) и свободные жирные кислоты. Липиды плазмы крови наиболее часто находятся в соединении с различными апопротеинами, образуя липопротеины. К настоящему времени лучше всего изучены 8 основных апопротеинов – Аро-А 1,2,4, Аро-В, Аро-С 1,2,3 и Аро-Е. Некоторые апопротеины являются составной частью определенных липопротеинов, другие же могут мигрировать от одного липопротеина к другому [1, 2].

Существует четыре основных класса липопротеинов плазмы крови:

1) хиломикроны (ХМ) – образуются в клетках слизистой оболочки кишечника и являются носителями пищевых ТГ;

2) липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП) — образуются в печени и используются для экспорта ТГ в другие ткани;

3) липопротеины низкой плотности (ЛПНП) – являются конечными продуктами катаболизма ЛПОНП и переносчиками ХС в клетки;

4) липопротеины высокой плотности (ЛПВП) – осуществляют метаболизм ХМ и ЛПОНП и транспортируют ХС из клеточных мембран в печень [3, 4].

Дефицит  $\beta$ -липопротеинлипазы (ЛПЛ) приводит к нарушению расщепления хиломикронов и ЛПОНП. В литературе описано, что имеется выраженная корреляция между способностью ткани включать жирные кислоты триацилглицеролов, находящихся в составе

липопротеинов, и активностью фермента липопротеинлипазы. Со слов авторов, нарушение функции липопротеинлипазы способствует также понижению содержания ЛПВП. Описаны три наиболее распространенных мутации ЛПЛ: точечная мутация (S447X) приводит к образованию стоп-кодона на месте серина-447 и таким образом синтезируется сокращенная копия фермента. Две другие мутации встречаются у примерно 3% населения (D9N и N291S). Все эти мутации хотя и не блокируют ЛПЛ, но повышают риск атеросклероза при наличии других неблагоприятных факторов (например, слишком жирное питание) [5-10].

**Целью** нашего исследования явилось описание случая редкого нарушения ферментативной активности ЛПЛ, ее возможная коморбидность, позволяющая повысить эффективность медикаментозной коррекции состояния.

### Материалы и методы.

На диспансерном учете в МСМГЦ-ЦР(О)З состоит 11 785 пациентов. Из них дефицит ЛПЛ предположен у 58 пациентов.

### Приводим собственное наблюдение.

Ирина С., 3 лет, направлена с диагнозом: Нарушение липидного обмена. Дефицит  $\beta$ -липопротеинлипазы.

**Жалобы:** дефицит массы тела, ежемесячные резкие боли в животе (в анамнезе, до начала терапии), периодическая ходьба на носочках.

**Анамнез заболевания:** считается больной с 4-х месяцев, когда перед вакцинацией АКДС при проведении обследования обращал на себя внимание выраженный хилёз крови. Была госпитализирована в стационар, установлен

диагноз: Наследственное нарушение липидного обмена: дефицит липопротеинлипазы (аутосомно-рецессивный тип наследования). При обследовании выявлено значительное повышение уровня глюкозы, холестерина, триглицеридов крови. Рекомендовано исключение продуктов из рациона с высоким содержанием глюкозы и липидов, приём урсофалька, аторвастатина, ксантинола никотината. Впоследствии находилась на плановом стационарном лечении каждые 6 месяцев. В 1 г. 11 мес. назначены никотиновая кислота и аторис. С 9 мес. девочку стали беспокоить выраженные боли в животе острого характера, не связанные с пищевыми факторами. Была госпитализирована, проведена аппендэктомия. В процессе операции выявлен дивертикул Меккеля, планировалось его удаление через несколько месяцев. Однако спустя 2 недели девочка была повторно госпитализирована в связи с появлением резких болей в животе. Диагностирован перитонит, тонко-тонкокишечная инвагинация, дивертикул Меккеля, проведена экстренная операция. После выписки из стационара опять стали беспокоить резкие боли в животе, была повторно госпитализирована, предположен начинающийся тромбоз сосудов тонкого кишечника, проведена инфузионная терапия. 27.04.2012 г. девочка поступила в плановом порядке в стационар с диагнозом: Острый геморрагический панкреатит, оменто-бурсит, асцит-перитонит, паретическая кишечная непроходимость, гиперлипидемический синдром. Проведена лапаротомия.

В настоящее время девочка принимает омакор и никотиновую кислоту. На фоне их приёма исчезли боли в животе и уровень триглицеридов снизился до 7-8 ммоль/л.

*Анамнез жизни:* девочка от IV беременности (протекала на фоне выраженного токсикоза в течение всей беременности), II родов физиологических в сроке гестации 40 недель. Масса при рождении 3250 гр., рост 51 см. Этапы физического и психо-моторного развития в раннем детстве соответствовало возрасту. Аллергических реакций нет.

*В родословной:* сердечно-сосудистая и онкопатология.

*Особенности фенотипа:* дефицит массы тела, мраморность кожных покровов, поверхностное расположение подкожных вен, гиперемия ладоней, гиперэластичность кожных покровов.

**Результаты проведенных исследований:**

- исследование полиморфизмов в генах ферментов фолатного цикла – обнаружен полиморфизм генов MTFHR 677 C/T, MTRR 66 A/G;

- гомоцистеин крови – 6,917 мкмоль/л (норма до 5);

- лактат крови – 3,12 ммоль/л (норма 0,2-2,2);

- ВЭЖХ аминокислот крови – нормограмма;  
 - биохимический профиль – щелочная фосфатаза 529,0 Ед/л (норма), общий холестерин 4,97 ммоль/л (норма), глюкоза 4,55 ммоль/л (норма), АСТ 66,90 Ед/л (норма до 48), АЛТ 55,50 Ед/л (норма до 33), триглицериды 16,10 ммоль/л (норма 0,4-1,24), мочевины 3,21 ммоль/л (норма), мочевины 21,84 мкмоль/л (норма 2,0-5,5), кальций 3,24 ммоль/л (норма), фосфор 5,52 ммоль/л (норма 1,45-1,78), КФК 260,94 Ед/л (норма до 228), ЛДГ 330,23 Ед/л (норма), общий билирубин 6,34 мкмоль/л (норма), ГГТ 16,20 Ед/л (норма), общий белок 147,25 г/л (норма 66-87);

- газовая хроматография мочи – выявлены метаболиты, которые могут быть повышены при чрезмерном росте бактерий в ЖКТ; нельзя исключить незначительные митохондриальные нарушения, мальабсорбцию фенилаланина и тирозина в ЖКТ;

- УЗИ внутренних органов: умеренная гепатомегалия, периваскулярная инфильтрация в печени и селезенке; перегиб желчного пузыря, признаки ДЖВП. Почки – УЗ-признаки солевого диатеза.

На основании жалоб (дефицит массы тела, ежемесячные резкие боли в животе (в анамнезе, до начала терапии), периодическая ходьба на носочках), анамнестических данных (болеет с раннего возраста, положительный эффект на фоне приёма никотиновой кислоты и омакора), особенностей фенотипа (дефицит массы, мраморность кожных покровов, поверхностное расположение подкожных вен, гиперемия ладоней), клинико-генеалогического анализа (сердечно-сосудистая и онкопатология), а также результатов дополнительных методов исследования (гипергомоцистеинемия, высокие уровни триглицеридов, АСТ, АЛТ, мочевины в крови; при исследовании полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла выявлены полиморфизмы MTFHR 677 C/T, MTRR 66 A/G) установлен *заключительный диагноз:*

Нарушение липидного обмена (дефицит β-липопротеинлипазы). Гипергомоцистеинемия. Полиморфизм генов MTFHR 677 C/T, MTRR 66 A/G. Митохондриальная дисфункция.

Проведена *терапия:* фолатная диета (исключены мясные бульоны и продукты с высоким содержанием метионина; рацион обогащён продуктами с высоким содержанием витаминов В6, В9, В12), никотиновая кислота, омакор, фолиевая кислота, витамин В6.

На фоне проводимой терапии уровень триглицеридов крови снизился до 5 ммоль/л, девочка стала активной, улучшился аппетит, за 2 месяца набрала в весе 700 гр.

**Выводы.** Таким образом, приведенное наблюдение показывает необходимость раннего выявления заболевания, комплексного обследования с учетом как биохимических, так и молекулярно-генетических методов подтверждающей диагностики, что дает возможность адекватной коррекции.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гоженко А.И., Котюжинская С.Г. Липопротеинлипаза в патологии липидного обмена. – Актуальные проблемы транспортной медицины № 2 (24), 2011 г., с. 9
2. Соколик В.В. Гепарин и инсулинорезистентность. – Матер. IX Українського біохімічного з'їзду. – Харків, 2006. – Т. 2. – С. 113-114
3. Reizes O, Goldberger O, Smith AC, Xu Z, Bernfield M, Bickel P. Insulin promotes shedding of syndecanectodomains from 3T3-L1 adipocytes: a proposed mechanism for stabilization of extracellular lipoprotein lipase. – Biochemistry. – 2006. – V.45, № 18. – P. 5703-5711
4. Zheng C, Murdoch SJ, Brunzell JD, Sacks FM. Lipoprotein lipase bound to apolipoprotein B lipoproteins accelerates clearance of postprandial lipoproteins in Humans. – Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2006. – V. 26, № 4. – P. 891-896
5. Conde Knape K., Bensadoun A., Sobel J.H., Cohn J.S., Shachter N.S. Overexpression of apoC I in apoE null mice: severe hypertriglyceridemia due to inhibition of hepatic lipase. – J. Lipid. Res.– 2002. – V. 43, № 12. – P. 2136-2145
6. Chapman J., Guerin M., Bruckert E. Role of anomalies of low density lipoproteins (LDL) in atherogenicity. – Bull Acad. Natl. Med. – 2001. – V. 185. № 1. – P. 35-39
7. Al Shali K., Wang J., Fellows F., Huff M., Wolfe B., Hegele R. Successful pregnancy outcome in a patient with severe chylomicronemia due to compound heterozygosity for mutant lipoprotein lipase. – Clin. Biochem. – 2002. – V. 35. – P. 125-130
8. Bergeron J., Normand T., Bharucha A. et al. Prevalence, geographical distribution and genealogical investigations of mutation 188 of lipoprotein lipase gene in the French Canadian population of Quebe. – Clin. Genet. 1992. – V. 41. – P. 206-210
9. Brunzell J.D., Deeb S.S. Familial lipoprotein lipase deficiency, apo CII deficiency and hepatic lipase deficiency. In: The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. – McGraw Hill, NY, 2001. – P. 2789-2816
10. Excoffon K., Liu G., Miao L. et al. Correction of hypertriglyceridemia and impaired fat tolerance in lipoprotein lipase deficient mice by adenovirus mediated expression of human lipoprotein lipase. – Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 1997. – V. 17. – P. 2532-2539

*S.V. Lisniak, Yu.B. Grechanina, L.V. Molodan*

#### CLINICAL CASE OF CONNECTION OF RARE DISORDERS OF LIPID EXCHANGE (β-LIPOPROTEINLIPASE DEFICIENCY), HYPERHOMOCYSTEINEMIA AND MITOCHONDRIAL DYSFUNCTION

**Summary:** The article presents a case of syntropy of orphan metabolic disease (β-lipoprotein lipase deficiency) with impaired folate-methionine cycle (hyperhomocysteinemia) and impaired energy metabolism (mitochondrial dysfunction).

**Key words:** lipid metabolism; folate-methionine cycle; mitochondrial dysfunction.

*S.V. Лісняк, Ю.Б. Гречанина, Л.В. Молодан*

#### КЛІНІЧНИЙ ВИПАДОК ПОЄДНАННЯ РІДКІСНОГО ПОРУШЕННЯ ОБМІНУ ЛІПІДІВ (ДЕФІЦИТ β-ЛІПОПРОТЕЇНЛІПАЗИ), ГІПЕРГОМОЦІСТЕЇНЕМІЇ І МІТОХОНДРІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ

**Резюме:** в статті представлений випадок сінтропії орфаного метаболічного захворювання (дефіцит β-ліпопротеїнліпази) з порушенням фолатно-метіонінового циклу (гіпергомоцистеїнемія) і порушенням енергетичного обміну (мітохондріальна дисфункція).

**Ключові слова:** ліпідний обмін; фолатно-метіоніновий цикл; мітохондріальна дисфункція.

Надійшло до редакції 11.10.2018р.

Підписано до друку 29.11.2018р.

*О.Б. Хміль*

*Міжобласний спеціалізований медико-генетичний центр-центр рідкісних (орфанних) захворювань,  
Харків, Україна*

**КЛІНІЧНИЙ ВИПАДОК  
СИНДРОМ СІМПСОНА-ГОЛАБІ-БЕМЕЛЯ.  
ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЯ.  
ХРОНІЧНЕ НОСІЙСТВО ТОКСОПЛАЗМОВОЇ  
І ЦИТОМЕГАЛОВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ**

**Вступ.** Синдром Сімпсона-Голабі-Бемеля (ОМІМ 312870) – Х-зчеплене рецесивне спадкове захворювання, яке характеризується значним клінічним поліморфізмом. Основними ознаками синдрому Сімпсона-Голабі-Бемеля є гігантизм (збільшення зросту і ваги при народженні), непропорційно велика голова з грубими, характерними рисами обличчя (гіпертелорізм, епікантус, косо розташовані очні щілини, широке перенісся, широкий ніс з поверненими вперед ніздрями, великий рот, великий язик з поздовжньою борозною, ущелина верхньої губи і/або піднебіння), коротка шия; спостерігаються скелетні аномалії (злиття хребців, сколіоз, аномалії ребер, вроджена дисплазія стегна), зміни кінцівок (широкі і короткі стопи і кисті, брахідактилія, синдактилія, полідактилія); приблизно в половині випадків відзначаються вроджені пороки серця і порушення з боку інших систем і органів (м'язова гіпотонія, діафрагмальні і пупкові грижі, дефекти сечостатевої, гастроінтестинальної системи та інші), у хворих підвищений ризик розвитку ембріональних пухлин, таких як нефробластома, гепатобластома, гонадобластома, нейробластома. Описані випадки синдрому Сімпсона-Голабі-Бемеля з розумовою відсталістю.

Синдром обумовлений мутацією гена гліпікана-3 (GPC3; 300037). Встановлено другий локус (SGBS2; 300209) на хромосомі Хр22.

**Наводимо наше спостереження:** пацієнт П., 2010 р.н.

**Скарги:** на швидку надбавку у вазі і рості, непропорційний ріст, затримку темпів психомовного розвитку, порушення ходи, часті падіння, врослі нігті на пальцях нижніх кінцівок.

**Анамнез захворювання:** дитина від І вагітності, що протікала на тлі ГРВІ, багатоводдя. Пологи І – вакуум-екстаркція, у матерії підвищення артеріального тиску до 200/100 мм рт.ст. Вага при народженні 2870 г, зріст 52 см. Народився у важкому стані, дитина була переведена в реанімацію відділення патології

новонароджених та недоношених дітей, діагноз – Натальна краніоцервікальна травма. Синдром пригнічення ЦНС, ранній відновний період. Внутрішньоутробна інфекція неуточнена з ураженням серця (кардит), печінки (неонатальна жовтяниця). Гіпоксична нефропатія. Дефіцитна анемія II ст. Водянка правого яєчка.

Обстежено фахівцями, в тому числі, генетиком, висновок: Хромосомна аберація. ВПС: ДМПП, додаткова хорда лівого шлуночка. Натальна краніо-спинальна травма.

При обстеженні – каріотип 46, ХУ.

Дитина спостерігається у невропатолога, курсами отримує лікування ноотропними препаратами, носить комір Шанца.

Етапи моторного розвитку з затримкою. З 2 місяців у дитини має місце врослий ніготь – спочатку І пальця обох стоп, а в подальшому приєдналися інші пальці. З раннього віку надлишково додавав у вазі: вага хлопчика в 6 місяців була 10 кг. У віці 1 рік був госпіталізований, обстежений, діагноз: Внутрішньоутробна інфекція невстановленої етіології з переважним ураженням центральної нервової системи (поєднаним з наслідками перинатального гіпоксично-травматичного ураження ЦНС). Синдром рухових порушень. Гідроцефальний синдром. Кардит середньоважкий. СН 0 ст. Дефіцитна анемія легкого ступеня. Атопічний дерматит. Макросомія. Паратрофія. Вроджена вузькість носових ходів. Риніт. Врослий ніготь І пальця правої стопи. Плоско-вальгусна деформація стоп.

При обстеженні в динаміці соматотропний гормон – в межах норми, виявлено: Ig G до токсоплазми, ЦМВ. У 2 роки у дитини був закритий перелом середини діафіза правої стегнової кістки зі зміщенням. При подальшому спостереженні генетиком у дитини був запідозрений церебральний гігантизм. У зв'язку з затримкою психомовного розвитку дитина була обстежена в умовах стаціонару, встановлений діагноз: Змішана субкомпенсована гідроцефалія. ЗППР. F

09. F 83. Синдром Сімпсона-Голабі-Бемеля. Гіпертрофія ЛГК I – II ст. Змішана деформація грудної клітки. Плоско-вальгусна деформація стоп. Високорослість (гігантизм спадково конституційного генезу). Ожиріння. Дифузний нетоксичний зоб I ст. Еутіроз. Врослий ніготь I пальця обох стоп.

Проведено ЯМРТ головного мозку: МР-картина гіпотрофії мозолистого тіла, помірної змішаної відкритої гідроцефалії.

Рентгенографія кистей – кістковий вік відповідає 5 років.

Фенотип: Вага-30 кг, зріст-118 см, мармуровість шкіри долоней, врослий ніготь пальців стоп, м'язова дистонія, гідроцефалія, окружність голови: 57 см, виступаючий лоб, широке обличчя, збільшені відстовбурчені вуха, епікант, монголоїдної розріз очей, довгий ніс, довгий фільтр, язик обкладений білим нальотом, коротка шия, широка деформована грудна клітка, гіпертелоризм сосків; посилений лордоз, кіфосколиоз, короткі кисті, широка пласка стопа.

Клініко-генеалогічний анамнез: родовід обтяжений по серцево-судинним захворюванням.

**Результати проведених досліджень:**

- Біохімічний аналіз крові: лужна фосфатаза – 855,6 Од/л ↑ (норма 0-720). Решта показників в межах вікової норми.

- Гомоцистеїн крові – 9,63 мкмоль/л ↑ (норма до 5,0).

- Нейровітаміни: В1 – 60,07 нмоль / л (норма 40,0-80,0), В2 – 100,24 ↓ нмоль / л (норма 100,0-150,0), В3 – 5,78 ммоль / л (норма 4,70-8,34), В9 – 52,89 ↓ нмоль/л (норма 52,55-119,59), В12 – 0,345 нмоль / л (норма 0,20-0,40), В6 – 23,0 нмоль / л (норма 14,6-72,8).

- Досліджено поліморфні варіанти генів фолатного циклу – ген MTRR A66G у гетерозиготному стані.

- Дослідження органічних кислот сечі: виявлені зміни метаболітів:

- кетоза;

- недостатності вітаміну В12.

- Урінолізис: позитивна проба на пролін (норма негативна). Решта показників в межах норми.

- УЗД внутрішніх органів: Помірна гепатомегалія. Печінка + 1-1,5 см. Перегин жовчного міхура. Ознаки ДЖВП. Гіперпневматоз кишечника.

- УЗД нирок: Метаболічні зміни (включення 1,2 мм). Наднирники не збільшені.

- Консультація ортопеда – Змішана субкомпенсована гідроцефалія. Синдром Сімпсона. Правобічний грудноперековий сколіоз II ст. Закритий гвинтоподібний перелом верхньої третини правої стегнової кістки зі зміщенням до 1 см, зовнішньо-ротаторна установка кінцівок, D> S. Плоско-вальгусна деформація стоп.

- Консультація кардіолога – Пропалс мітрального клапана I ст.

На тлі проведеного лікування – дієта з обмеженням продуктів з високим вмістом метіоніну та прийому піридоксину, у дитини покращилось розуміння мови і з'явилося кілька нових слів.

Надійшло до редакції 10.10.2018р.

Підписано до друку 29.11.2018р.

*Ю.Б. Гречанина, Л.В. Молодан, Ю.Н. Гринченко*  
*Межобластной специализированный медико-генетический центр —*  
*центр редких (орфанных) заболеваний, Украина*

## КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ СОЧЕТАНИЯ НЕЙРОФИБРОМАТОЗА II ТИПА, ДЕФИЦИТА МЕТИЛЕНТЕТРАГИДРОФОЛАТРЕДУКТАЗЫ, МЕТИОНИНСИНТАЗАРЕДУКТАЗЫ, МЕТИОНИНСИНТАЗЫ С ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИЕЙ И СОЕДИНИТЕЛЬНОТКАННОЙ ДИСПЛАЗИЕЙ

**Вступление.** Нейрофиброматоз 2 типа является аутосомно-доминантным заболеванием, которое характеризуется образованием множественных доброкачественных опухолей – шванном и менингиом, локализующихся в центральной нервной системе и по ходу периферических нервов. Мутантный ген – NF2. По словам авторов, с мутациями в этом гене связано как образование спорадических шванном и менингиом по всему телу, так и развитие опухолей, на первый взгляд не связанных с нейрофиброматозом, например, злокачественных мезотелиом.

**Целью** нашего исследования является изучение возможной коморбидности моногенного заболевания, отягощенного наличием мутаций в генах предрасположенности (дефицит фолатно-метионинового цикла), соединительно-тканной дисплазии как фонового состояния и наличием вторичных метаболических нарушений (гипергомоцистеинемией).

**Материалы и методы:** проведены клинико-генеалогический метод, синдромологический анализ, лабораторные и инструментальные исследования.

Приводим наше наблюдение. Семья с ребёнком Б., 07.06.2010 года рождения, обратились в ХСМГЦ с жалобами на наличие пигментных пятен цвета «кофе с молоком» по всему телу, увеличивающиеся с ростом ребёнка, экзофтальм, снижение аппетита.

**Анамнез заболевания:** С 5,5 месяцев появились пигментные пятна по телу (одномоментно, в количестве 5 штук). Осмотрена дерматологом (01.02.2011 год), установлен диагноз: нейрофиброматоз.

В ноябре 2010 года осмотрена неврологом, установлен диагноз: Синдром диффузной мышечной гипотонии. Нейрофиброматоз Реклингхаузена? Получала элькар.

10.12.2010 год – осмотр невролога:

На радужке левого глаза «светлое» пятно факоматозного происхождения? Заключение: В настоящее время очаговых изменений со стороны нервной системы вследствие факоматоза (болезнь Реклингхаузена) не отмечено.

Проведена ЭХО-КГ (18.11.2010 год), заключение: АХЛЖ.

С февраля 2014 года появился экзофтальм. Консультирована офтальмологом: Застой диска зрительного нерва, явления макулопатии.

09.04.2014 год консультирован неврологом: Нейрофиброматоз Реклингхаузена.

Произведено МРТ головного мозга (17.04.2014 год): Новообразование правого зрительного нерва, очаговое поражение правой подбугорной области и передней спайки могут являться проявлениями одного процесса – нейрофиброматоза. Изменения в перивентрикулярных отделах белого вещества обоих полушарий обусловлены нарушением миелинизации. Шейная лимфаденопатия.

Консультирована нейрохирургом (17.04.2014 год): В настоящее время в оперативном лечении не нуждается.

**Анамнез жизни:** от 1 беременности, протекавшей на фоне угрозы прерывания (гипертонус матки), токсикоза в первой половине беременности (получала вибуркол, утрожестан, дексаметазон, магне В6), во 2 половине беременности – ринит, 1 физиологических родов, в сроке гестации 39-40 недель. Родилась весом 3450 г, ростом 50 см, окружность головки 34 см, окружность грудной клетки 34 см, 7-8 баллов по шкале Апгар с кефалогематомой левой теменной кости.

**В фенотипе обращает внимание:** вес 13 кг, рост 92 см, бледность кожных покровов, пигментные пятна «кофе с молоком», тонкие, светлые волосы, лёгкая мышечная гипотония, экзофтальм правого глаза, гипермобильность суставов, АХЛЖ.

**Клинико-генеалогический анализ:**  
родословная отягощена по мультифакториальной патологии.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕДЕННЫХ  
ИССЛЕДОВАНИЙ В ХСМГЦ:**

- Кариотипирование: 46, XX, G-, C-окрашивание, 2% хромосомной нестабильности.

- Молекулярно-генетический анализ: Исследованы полиморфные варианты генов системы ферментов фолатного цикла. Обнаружено: ген MTHFR C677T в гомозиготном состоянии, ген MTRR A66G в гомозиготном состоянии, ген MTR A2756G в гомозиготном состоянии.

- ↑ Гомоцистеин крови: 6,33 мкмоль/л (норма до 5).

- Биохимический анализ крови : ↑ общий билирубин – 23,95 мкмоль/л (норма 0-20,5 мкмоль/л), все остальные показатели в пределах референтных значений.

- Уринолизис: проба на пролин – положительная (норма – отрицательная), все остальные показатели в пределах референтных значений.

- Исследование органических кислот мочи методом газовой хроматографии (2014 год): Выявлены изменения метаболитов: соединительной ткани; АК триптофана; недостаточности витамина С, коэнзима Q10.

- Нейровитамины: ↓ витамин В2 – 99,32 нмоль/л (норма 100 – 150 нмоль/л), витамин В12 – 0,230 нмоль/л (норма 0,2-0,4 нмоль/л), витамин В1 – 48,14 нмоль/л (норма 40-80 нмоль/л), витамин В9 – 60,97 нмоль/л (норма 52,55-119,59 нмоль/л), ↓ витамин В3 – 3,88 нмоль/л (норма 4,7-8,34 нмоль/л), витамин В6 – 14,96 нмоль/л (норма 14,6-72,8 нмоль/л).

- Консультация невропатолога: Имеет место меланоз радужки, экзофтальм справа. Лёгкая гипотония мышц. Рефлексы без разницы сторон. Положительный симптом Бабинского с обеих сторон. Заключение: Лёгкая пирамидная недостаточность.

- УЗИ внутренних органов: Умеренная гепатомегалия.

УЗИ почек: Метаболические изменения (включения 1,6 мм). Умеренный гидрокаликоз (чашечки 6 мм). Надпочечники не увеличены.

- УЗИ щитовидной железы: ЭХО-признаков патологии не выявлено.

- ЭКГ: Ритм синусовый, синдром преждевременной реполяризации желудочков.

- ЭЭГ: Умеренные диффузные изменения с признаками повышенной возбудимости срединных структур.

- РЭГ: Кровенаполнение сосудов достаточное. Артериальный тонус неустойчив.

- ЭХО-ЭС: М-ЭХО без смещения.

**Установлен диагноз:** Бластоматозная форма факоматоза. Нейрофиброматоз II типа. Соединительнотканная дисплазия, недифференцированная форма. Гипергомоцистеинемия. Дефицит метилентетрагидрофолатредуктазы, метионин синтазаредуктазы, метионинсинтазы.

**РЕКОМЕНДОВАНО:**

**1 курс лечения:**

- Кофакторная фолатная диетотерапия на 1 месяц (ограничить говядину, бульоны, гречневую крупу, твёрдый сыр, яичный белок, творог).

- Стомак-суппорт по ½ капсулы 1 раз в день, курс 1 месяц.

- Коэнзим Q10 по ½ капсулы 1 раз в день 1 месяц.

Препараты вводить постепенно, по одному в день.

**2 курс лечения:**

- Витамин С по 50 мг 1 раз в день 1 месяц.

- Метилкобаламин по ¼ капсулы 1 раз в день 1 месяц.

- Фосфоглив по ½ капсулы 1 раз в день 1 месяц.

Препараты вводить постепенно, по одному в день.

- Наблюдение невропатолога, кардиолога, офтальмолога.

- Контроль МРТ головного мозга, ЭКГ.

- Не показаны инсоляции, массивная гормонотерапия, биостимуляции, физиотерапия.

- Исследование билирубина в крови по фракциям.

- Динамическое наблюдение в ХСМГЦ.

**Выводы:**

Показанное наблюдение свидетельствует о том, что в генезе развития патологического состояния пациента и соответствующей симптоматики имеют значения мутации в генах предрасположенности – генах фолатно-метионинового цикла, катализатором может служить любой входящий фактор (стресс, травмы, инфекции, операции, вакцинации), а путем коррекции может быть нормализация сопутствующих метаболических нарушений – путем рациональной коррекции диетотерапии согласно показателям, а также выведения токсических продуктов обмена путем кофакторной терапии.

Надійшло до редакції 19.10.2018р.

Підписано до друку 03.12.2018р.



*О.П. Здибська, Ю.Б. Гречаніна, О.Б. Хміль*

*Харківський національний медичний університет, Харків, Україна  
Харківський міжобласний спеціалізований медико-генетичний Центр  
– Центр рідких (орфанних) захворювань, Харків, Україна*

## ВИПАДОК ПОЄДНАННЯ ГЛУТАРОВОЇ АЦИДЕМІЇ 2 ТИПУ І ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ

**Резюме.** У статті наведені оглядові дані за сучасними уявленнями про органічні ацидемії і, зокрема, про глутарову ацидемію 2 типу. Матеріал проілюстровано клінічним випадком з описом індивідуального підходу до лікування в залежності від метаболічних порушень.

**Ключові слова:** глутарова ацидемія 2 типу; органічні ацидурії.

**Вступ.** Серед генетично детермінованих захворювань людини, одне з найбільш значущих місць займають спадкові порушення обміну або метаболічні хвороби – моногенні захворювання, при яких мутації генів призводять до патохімічних порушень і, як наслідок, до маніфестації розгорнутої клінічної та біохімічної картини [2].

Останнім часом предметом наукового дослідження і практичного пошуку стали захворювання, викликані порушенням обміну амінокислот – органічні ацидемії, які в більшості випадків пов'язані з дефіцитом мітохондріального метаболізму. Інтерес до органічних ацидемій пояснюється тим, що більшість катастроф перинатального періоду і раптової смерті пов'язані саме з цими метаболічними хворобами, число яких постійно зростає. Тому, аналіз амінокислот і органічних кислот повинен проводитися у кожної дитини, у якої є ознаки інтоксикації, ураження головного мозку неясного генезу; у дітей з неспецифічною розумовою відсталістю; якщо в клінічній картині захворювання зустрічається судомний синдром, затримка темпів психомоторного розвитку, сильна блювота, відмова від їжі, гіпотрофія, респіраторний і нейродистрес синдроми, гепатоспленомегалія, аутична, агресивна поведінка, порушення м'язового тону [1,3,4,8].

Глутарова ацидемія тип II (множинна недостатність ацил-КоА дегідрогеназ жирних кислот) – захворювання з групи органічних ацидемій (ОМІМ: 231680) з аутосомно-рецесивним типом успадкування, що виникає в результаті мутації в трьох різних генах, що кодують  $\alpha$  – або  $\beta$ -субодиницю електронотранспортного флавопротеїна (ЕТФ) або в гені ЕТФ: убіхіноноксиредуктази (ETF-QO). Гени картовані на хромосомах 15q23, 19q13, і 4q32, відповідно [7]. Патогенетичні механізми виникнення некетоїчної гіпоглікемії, гіперамонемії і гіпоглікемії, загальні для дефектів мітохондріального окислення жирних кислот,

включають порушення продукції ацетил-КоА, зниження синтезу N-ацетілглутамата і порушення аллостеричної активації піруваткарбоксілази. Захворювання характеризується загальною м'язовою слабкістю, гепатомегалією, метаболічний ацидоз, гіпоглікемією [6, 7].

**Метою** опису даного клінічного випадку є показати важливість раннього виявлення органічних ацидемій для максимальної корекції метаболічних порушень, попередження загрозливих життю наслідків шляхом патогенетичного або симптоматичного лікування.

**Матеріали та методи.** Клініко-генеалогічний метод, синдромологічний аналіз, лабораторні та інструментальні дослідження.

**Результати та обговорення.** Наводимо опис клінічного випадку поєднання глутарової ацидемії 2 типу з гіпергомоцистеїнемією і дефіцитом нейровітамінів.

Дитина А., 3 роки поступила зі скаргами на затримку психомоторного і мовного розвитку: говорить окремими складами, не сидить, не стоїть, не ходить, практично не тримає голову; напади судом у вигляді посмикування повік і періодичне відведення очних яблук.

З анамнезу відомо, що дівчинка хвора з народження – через 7 годин після пологів відзначена втрата свідомості, лихоманка 39,6°C, задишка, тахікардія, екстензорний гіпертонус, судомна готовність. Була переведена в ВРІТ з діагнозом кома I, була інтубована. Надалі перебувала в ОПН з діагнозом: Судомний синдром (генералізовані тоніко-клонічні), ст. клінічної ремісії, кома I в анамнезі, синдром затримки стато-кінетичних функцій, рухових, вегето-вісцеральних порушень, спастичний тетрапарез внаслідок перенесеного ішемічно-метаболічного ураження ЦНС, ранній відновний період. Полісерозит (2-х сторонній гідроторакс, гідроперитонеум). Постгіпоксичне ураження кишечника. Анемія змішаного генезу I ступеня. Гіперамоніємія. Проводилась плевральна пункція, протисудомна, дезінтоксикаційна,

антибактеріальна терапія. У харчуванні отримувала: суміш Хумана HN, min MCT. Вагу набирала погано, відзначалася виражена затримка психо-моторного розвитку. Спостерігалася у невропатолога, курсами отримувала ноотропи, Діакарб з Аспаркамом, антиконвульсанти.

У 3 місяці дитині було проведено аналіз ацилкарнітінів:

C12-0,35 (рез-т-0,469 мМ / М) – ацилкарнітін

C12: 1-0,24 (рез-т-0,469 мМ / М) – додексаілкарнітін

C4-0,1 (рез-т-1,58 мМ/М) – ізобутірілкарнітін

C5-0,6 (рез-т-1,16 мМ / М)-валеріл-2-метил-бутілкарнітін

C6-0,24 (рез-т-0,691 мМ / М) – гексанаілкарнітін

C8-0,3 (рез-т-0,461 мМ / М) – октанкарнітін.

Органічні кислоти сечі: збільшена концентрація 2-кетоглутарової кислоти, 3-гідроксибутирата, 3-гідроксіпропіонової кислоти, 4-гідроксифенілацетата і гіпурової кислоти, незначне збільшення концентрації глутарової кислоти, лактату і етілмалонової кислоти.

Дитині був встановлений діагноз – спадкове порушення обміну речовин, органічна ацидурія, глутарова ацидурія II тип, судомний синдром, груба затримка стато-моторного і передречевого розвитку, анемія I-II змішаного генезу. В 1 рік 3 місяці дитині проведено МРТ головного мозку: картина мультикистозної трансформації головного мозку, ознаки варіанту Денді-Уокера. На ЕЕГ визначається: фокус епіактивності в лівій середньо-задньо-скроневій області кори, вторинне залучення в процес T2 і Fg областей зліва, функціональна нестійкість серединних структур мозку на функціональні проби.

В 1 рік 7 місяців дитина проходила курс інтенсивної нейрофізіологічної реабілітації в м.Трускавець з діагнозом: ДЦП, спастична тетраплегія, рухові порушення V рівня за класифікацією GMFCS, судомний синдром. Лікування: нейрофізіологічна корекція хребта за методикою Козьякіна, рефлексотерапія, комплекс масажу, мобілізуюча гімнастика, апітерапія, віброекстензор, світлотерапія.

В 3 роки проведено цитогенетичне дослідження – каріотип 46, XX.

У харчуванні дитина отримувала: їжа пропущена через блендер, молоко 0,5% – 150 мл / добу, сухе знежирене молоко, каші Хумана MCT, продукти для дітей хворих на ФКУ (низькобілкові). Протягом останнього року мати не дотримувалася дієти, рекомендованої дитині генетиками. Дівчинка отримувала найрізноманітніші продукти, в тому числі і м'ясо.

Анамнез життя: пробанд від III вагітності (2 попередні вагітності – мед. аборт), що протікала з наступними особливостями: в першій половині

вагітності загроза переривання і ГРВІ, набряклість нижніх кінцівок, підвищений артеріальний тиск у другій половині вагітності. У зв'язку з захворюванням приймала лікування Дексаметазон (гіперпрогестеронемія). Пологи в строк 40 тижнів, фізіологічні. У дівчинки було одноразове туге обвиття пуповини навколо шиї. Окружність голови 35см, окружність грудної клітини 34см, вага 2960г, ріст 49 см. Не вакцинована.

3 перенесених захворювань: ГРВІ, блефарокон'юнктивіт правого ока, герп. ангіна.

У фенотипі: вага 14 кг, зріст 92 см, блідість шкіри, одиничний точковий невус, густе, темне волосся, м'язовий гіпертонус, мікроцефалія, вальгусна деформація стоп.

Клініко-генеалогічний анамнез: родовід обтяжений серцево-судинними захворюваннями, онкопатологією.

Неврологічний статус: гіпертонус, високі рефлекс з розширеною зоною. Мікроцефалія. На огляд дає хворобливі тонічні судоми з витягуванням і перехрестом нижніх кінцівок. Погляд не фіксує, не сидить, не стоїть, не ходить.

Проведено обстеження:

- Біохімічний аналіз крові-підвищений рівень лужної фосфатази – 741,5 Од / л (норма 0-720 Од / л), тригліцеридів – 1,58ммоль / л (норма 0,4-1,24ммоль / л), креатінкінази – 233, 24Ед / л (норма 0-228Ед / л), гамаглутамілтрансферази – 48,32Ед / л (норма 0-18Ед / л).

- Гомоцистеїн крові-17,5 мкмоль / л (норма <5,0) – ↑

- Нейровітаміни:

Тіамін (вітамін В1) – 41,25nmol / l (норма 40-80)

Рибофлавін (вітамін В2) – 87,66nmol / l (норма 100-150) – ↓

Нікотинова кислота (вітамін В3) – 4,01nmol / l (норма 4,70-8,34) – ↓

Фолієва кислота (вітамін В9) – 51,74nmol / l (норма 52,55-119,59) – ↓

Ціанокобаламін (вітамін В12) – 0,161nmol / l (норма 0,2-0,4) ↓

Піридоксин (вітамін В6) – 14,51nmol / l (норма 14,6-72,8) ↓

- Газова хроматографія сечі, дослідження органічних кислот. Виявлено зміни метаболітів: циклу Кребса, недостатності В1, В3, Zn, Mg.

- УЗД внутрішніх органів: Помірна гепатомегалія. Деформація жовчного міхура. Ознаки ДЖВП. Гіперпневматоз кишечника. Нирки: Метаболічні зміни (включення 1,5мм). Нефроптоз? правої нирки. Наднирники неоднорідні.

**Висновки.** Дитині встановлено діагноз: НБО, органічна ацидурія, глутарова ацидурія II типу, гіпергомоцистеїнемія, дефіцит нейровітамінів.

Призначено лікування: дієта з обмеженням жирів і білка з розрахунку 1г/кг маси тіла, зменшити в раціоні продукти, що містять велику кількість лізину і триптофану. Вітамін В6, бетаїн, свічки Коріліп, L-карнінін, Бетаргін, Глутаргін. Крім того, дитина одержувала протисудомну терапію – Карбалекс, Баклофен, а також мама самостійно давала дитині пробіотики: Лінекс і Біогай.

Після курсу лікування мама відзначає поліпшення в стані здоров'я дитини: дівчинка

перестала похлинатися водою, рідкою їжею, стала краще ковтати. Таким чином, в нашому спостереженні можна говорити про поєднання глутарової ацидемії 2 типу та гіпергомоцистеїнемії. Виявлені метаболічні порушення дозволили розробити індивідуальну тактику ведення хворої дитини, спрямовану на максимальну корекцію метаболічних порушень і поліпшення якості життя.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ:

1. Белоусова Е.Д. Наследственные болезни обмена веществ, проявляющиеся в периоде новорожденности/ Е.Д. Белоусова, М.Ю. Никанорова, Е.А. Николаева// Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2000. – №6. – С. 12-19.
2. Гречанина Ю.Б. Наследственные заболевания и остеопороз/ Ю.Б. Гречанина, Е.Я. Гречанина, О.П. Романенко [и др.]// издательство ХНАДУ. – 2011. – С. 297-308.
3. Здыбская Е.П. Органические ацидурии в практике медико-генетического консультирования/ Е.П. Здыбская, В.В. Мясоедов//Ультразвукова перинатальна діагностика. – Харків. – 2006. – №22. – С. 18-23.
4. Москалева Н.Е. Диагностика нарушений обмена веществ методом тандемной хромато-масс-спектрометрии/ Н.Е. Москалева, И.С. Мамедов, А.Н. Веденин, В.С. Сухоруков// Клинико-лабораторный консилиум. – 2008. – №3(22). – С. 21-25
5. Abdenur J.E. Multiple acyl-CoA-dehydrogenase deficiency (MADD): use of acylcarnitines and fatty acids to monitor the response to dietary treatment/ Abdenur J.E., Chamoles N.A., Schenone A.B., Jorge L., Guinle A., Bernard C., Levandovskiy V., Fusta M., Lavorgna S.//Pediatr Res. – 2001. – № 50(1). – P. 61-62.
6. Essa M.A. Glutaric aciduria type II: observations in seven patients with neonatal – and late-onset disease/ Rashed M.S., Bakheet S.M., Patay Z.J., Ozand P.T.//J Perinatol. – 2000. – №20(2). – P. 120-128.
7. Karam P.E. Diagnostic challenges of aminoacidopathies and organic acidemias in a developing country: a twelve-year experience./ Karam PE, Habbal M.Z., Mikati M.A., Zaatari G.E., Cortas N.K., Daher R.T.//Clin. Biochem. – 2013. – №46(18). – P. 92.

*Е.П. Здыбская, Ю.Б. Гречанина, О.Б. Хмиль*

### СЛУЧАЙ СОЧЕТАНИЯ ГЛУТАРОВОЙ АЦИДЕМИИ 2 ТИПА И ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ

**Резюме.** В статье приведены обзорные данные по современным представлениям об органических ацидемиях и, в частности, о глутаровой ацидемии 2 типа. Материал проиллюстрирован клиническим случаем с описанием индивидуального подхода к лечению в зависимости от метаболических нарушений.

**Ключевые слова:** глутаровая ацидемия 2 типа; органические ацидурии.

*О.П. Zdibska, Yu.B. Grechanina, O.B. Khmil*

### CASE OF COMBINATION OF GLUTAR ACIDEMIA 2 TYPE AND HYPERTOMOCYSTEINEMIA

**Summary.** The article presents the survey data on modern concepts of organic acidemia, including glutaric acidemia of type 2. Material is illustrated with a description of a clinical case of an individual approach to treatment, depending on the metabolic disorders.

**Key words:** glutaric acidemia type 2; organic aciduria.

Надійшло до редакції 10.10.2018р.

Підписано до друку 30.11.2018р.

*Ю.Б. Гречанина, Л.С. Литвинова*

*Межобластной специализированный медико-генетический Центр –  
центр редких (орфанных) болезней*

## КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ПЕРИОДИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ АБДОМИНАЛЬНОЙ ФОРМЫ

**Введение.** Периодическая болезнь (средиземноморская семейная лихорадка) – наследственное заболевание, этиологическим фактором которой являются нарушения в работе гранулоцитов. Впервые описана в 1948-м году Райманном. Проявлениями болезни являются повторяющиеся приступы, которые и обусловили ее название. Болезнь имеет особенность в том, что чаще всего возникает у представителей средиземноморского региона и Малой Азии, главным образом у армян, арабов, греков, испанцев, итальянцев, евреев-сефардов и турок, у остальных национальностей отмечены только спорадические и статистически не значимые случаи периодической болезни. Наиболее часто периодическая болезнь встречается у турок, арабов и армян. В некоторых регионах, частота заболеваемости составляет 1:1000-2500. Тип наследования – аутосомно-рецессивный. Мутация выявлена в гене MEFV 16-й хромосомы. Ген кодирует белок маренострин (пирин), выполняющий функции центрального регулятора воспаления и первичного регулятора иммунного ответа. Миссенс-мутации в гене приводят к дегрануляции нейтрофилов. Также, по мнению авторов, уменьшается активность C5a компонента комплемента, который вызывает обострение состояния, дающее название данному синдрому. Заболевание развивается у гомозигот. Различают 4 основные клинические формы: абдоминальную, торакальную, суставную и псевдомаларийную.

Для абдоминальной формы характерна клиническая картина «острого живота», при котором отмечается резкое повышение температуры тела до 40-41°C, опоясывающие боли, ригидность мышц брюшной стенки, тошнота и рвота. Обострение состояния длится до нескольких суток. Возможно ошибочное описание состояния как перитонит. Если лечение не производится, возможно развитие амилоидоза почек, приводящее к хронической почечной недостаточности и уремии. Подтверждающая диагностика периодической болезни производится путем проведения молекулярно-генетической диагностики в совокупности с изучением анамнеза, с учетом национальности пациента. Поиск в гене производится мутаций MEFV – M694V и

V726A, однако для более точной диагностики производится полное секвенирование гена. Описанное в литературе лечение периодической болезни – симптоматическое. Прогноз зависит от наличия или отсутствия амилоидоза. Возможно проведение пренатальной диагностики при носительстве мутационного гена у обоих родителей.

**Целью** нашего исследования явилось описание случая абдоминальной формы периодической болезни с учетом возможной коморбидности данного заболевания, что, в одном случае утяжеляет течение заболевания, а в другом – расширяет возможности симптоматической терапии.

**Материалы и методы:** проведены клинико-генеалогический метод, синдромологический анализ, лабораторные и инструментальные исследования.

Приводим описание одного из случаев. Ребёнок А., 1996 г. р., направлен в ХСМГЦ в связи с частыми резкими болями в животе. Жалобы на частые интенсивные боли в животе у ребёнка (болевого приступ продолжается до 2-3 дней).

**Анамнез заболевания:** известно, что впервые боли в животе стали беспокоить в возрасте 4 лет. Консультирован хирургом, предполагался мезаденит, однако на фоне проводимого лечения приступы боли продолжали беспокоить. Неоднократно обследован детским инфекционистом, патогенной микрофлоры высеяно не было.

**Анамнез жизни:** известно, что мальчик родился от II беременности, протекавшей без осложнений, II родов физиологических в сроке гестации 39-40 недель. Вес при рождении 3400 гр., рост 54 см; оценка по шкале Апгар 8-9 баллов. Этапы физического и психомоторного развития соответствовали возрасту. Перенёс: ОРЗ, ветряная оспа. Травм, операций не было.

**Особенности фенотипа:** телосложение нормостеническое, поверхностное расположение подкожных вен, широкое лицо, периорбитальные тени, синофриз, длинный нос, короткий фильтр, гипертрихоз, гипермобильность суставов, клинодактилия III пальца кистей, кисти и стопы холодные на ощупь.

**Клинико-генеалогический анализ:** у отца и дяди по отцовской линии подобные резкие боли в животе.

**Результаты проведенных исследований:**

- АК и углеводы: – нормограмма;
- биохимический профиль – умеренное повышение уровня мочевой кислоты (5,82 мг% при норме 2,0-5,5) и ЛДГ (323,29 Ед/л при норме до 290);
- гомоцистеин крови – 10,8 мкмоль/л (норма до 5);
- фолиевая кислота крови – 5,4 нг/мл (нижняя граница нормы);
- витамин В12 крови – 287 пг/мл (норма);
- генетический анализ мутаций гена MEFV 16 обнаружены – 2 мутации в компаунд-гетерозиготном состоянии;
- УЗИ внутренних органов – печень +1, периваскулярная инфильтрация, признаки ДЖВП, неоднородная структура поджелудочной железы; почки – ветвистый тип строения почечных синусов, метаболические изменения (включения до 1,5 мм).

На основании жалоб (частые интенсивные боли в животе у ребёнка (болевого приступ продолжается до 2-3 дней)), анамнестических данных (семья армянской национальности, ребёнок болеет с раннего детства, отсутствие положительного эффекта при лечении мезаденита, отсутствие патогенного возбудителя при инфектологическом обследовании), особенностей фенотипа (телосложение нормостеническое, поверхностное расположение подкожных вен, широкое лицо, периорбитальные тени, синофриз, длинный нос, короткий фильтр, гипертрихоз, гипермобильность суставов, клинодактилия III пальца кистей, кисти и стопы холодные на ощупь), клинико-генеалогического анализа (у отца и дяди по отцовской линии подобные приступы болей в животе), а также результатов дополнительных методов исследования (при генетическом анализе мутаций гена MEFV 16 хромосомы – обнаружены 2 мутации в компаунд-гетерозиготном состоянии; гипергомоцистеинемия) установлен **диагноз:** Периодическая болезнь, абдоминальный тип. Гипергомоцистеинемия.

Назначена терапия: фолатная диета (исключить продукты с высоким содержанием метионина и обогащение рациона продуктами с высоким содержанием витаминов В6, В12 и фолиевой кислоты), колхицин, витамин В6, фолиевая кислота. На фоне проводимой терапии боли в животе прекратились.

**Выводы.**

Таким образом, диагноз устанавливают на основании следующих критериев:

- периодически возникающие короткие атаки болезни (абдоминальные, торакальные, суставные, лихорадочные), не связанные с определенным провоцирующим фактором, отличающиеся стереотипностью;
- начало болезни в детском или юношеском возрасте, преимущественно среди определенных этнических групп;
- нередкое обнаружение болезни у родственников;
- частое развитие амилоидоза почек; лабораторные показатели в основном неспецифичны и отражают остроту воспалительной реакции или степень недостаточности почек.

При первых проявлениях периодической болезни дифференциальная диагностика бывает трудной и основывается на тщательном исключении болезней со сходной симптоматикой (острые кишечные инфекции, мезаденит, хронический аппендицит, тромбоз вен брыжейки и т.д.). При повторных рецидивах болезни учитывают выше перечисленные критерии и то, что для периодической болезни характерно удовлетворительное самочувствие больных в межприступный период и резистентность к любой терапии, в том числе антибиотиками и глюкокортикоидами.

Таким образом, приведенный случай заболевания свидетельствует не только о коморбидности этого заболевания, но и о возможности эффективной коррекции состояния.

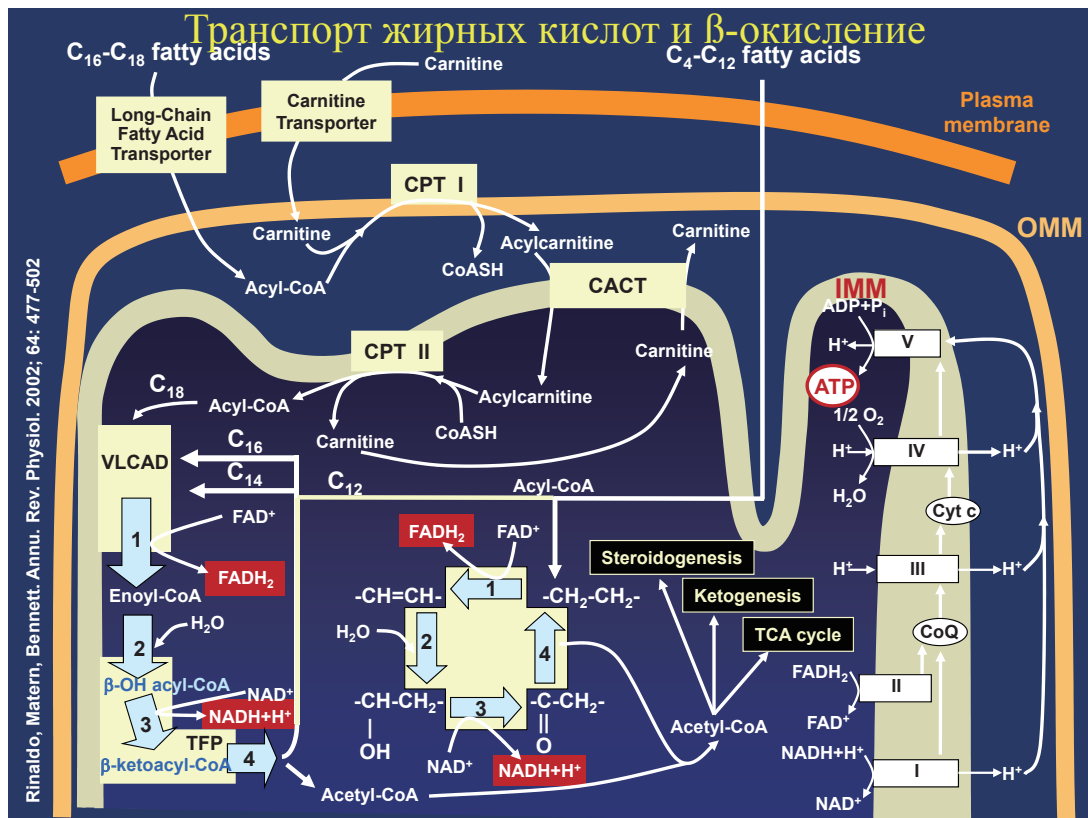
Надійшло до редакції 09.10.2018р.

Підписано до друку 30.11.2018р.

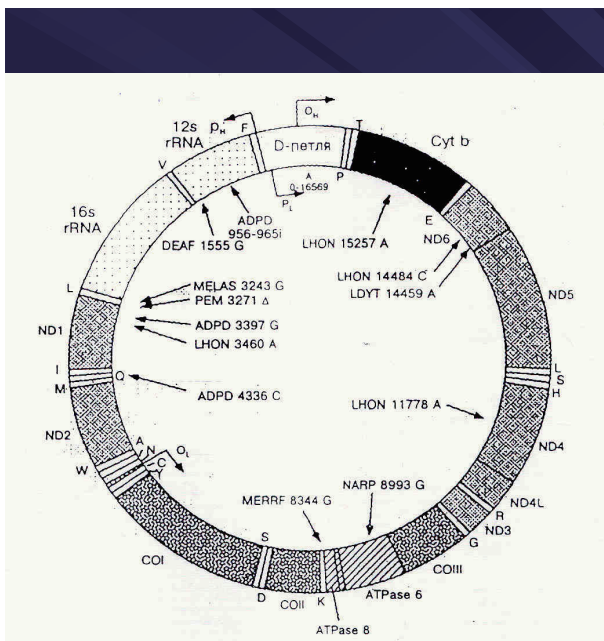
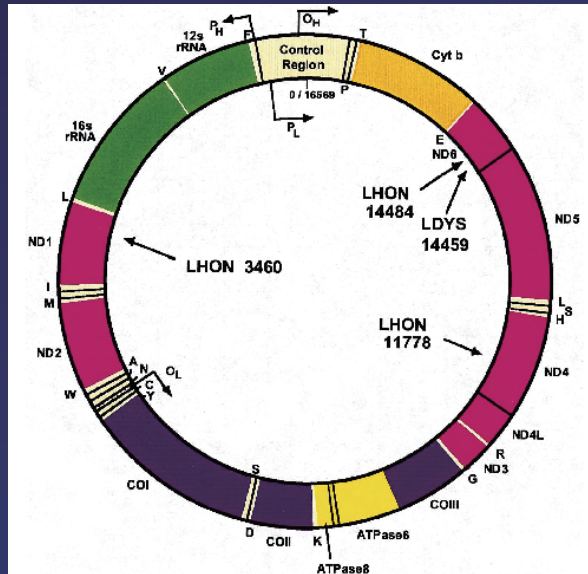
# Митохондриальні хвороби

Ю.Б. Гречанина

Український інститут клінічної  
генетики ХНМУ



# Митохондриальна ДНК



**ADPD** - Болезнь Альцгеймера / болезнь Паркинсона;  
**DEAF** - нейросенсорная глухота;  
**LHON** - наследственная нейроофтальмопатия Лебера;  
**LDYT** - LHON и дистония;  
**MELAS** (митохондриальная миопатия, энцефалопатия, лактат-ацидоз и судороги);  
**MERRF** - миоклональная эпилепсия в сочетании с "рванными" красными мышечными волокнами;  
**NARP** - нейропатия, атаксия и пигментный ретинит;  
**PEM** - летальная прогрессирующая энцефаломиопатия

- **Митохондриальные болезни** - гетерогенная группа заболеваний, обусловленных генетическими, структурными, биохимическими дефектами митохондрий и нарушением тканевого дыхания

## Диагностика митохондриальных нарушений

### Миопатический синдром

- Мышечная слабость, гипотония и атрофия
- Миалгии
- Снижение толерантности к физическим нагрузкам



## **Поражение центральной и периферической нервной системы**

- Респираторный дистресс-синдром
- Нарушение психомоторного развития
- Судороги
- Атаксия
- Пирамидные расстройства
- Нарушение со стороны глазодвигателей (наружная офтальмоплегия, птоз и пр.)
- Полиневропатия

## **Поражение печени**

- Прогрессирующая гепатомегалия
- Фиброз печени
- Явления печеночной недостаточности

## **Поражение сердца**

- Гипертрофическая кардиомиопатия

## **Поражение почек**

- Триада Фанкони (фосфатурия, глюкозурия, аминоацидурия)

### Эндокринные нарушения

- Задержка роста
- Гипогликемия

### Поражение слуха

- Нейросенсорная глухота

### Поражение зрения

- Атрофия зрительных нервов
- Пигментная дегенерация сетчатки
- Катаракта

### Нарушения

### желудочно-кишечного тракта

- Повторная рвота
- Диарея

### Данные морфологических исследований, свидетельствующие о грубой патологии митохондрий

- Пролиферация митохондрий
- Полиморфизм митохондрий с нарушением формы и размеров, дезорганизация крист
- Скопления аномальных митохондрий под сарколеммой
- Паракристаллические включения в митохондрии
- Наличие межфибриллярных вакуолей

## Синдром Кернса-Сейра

- Заболевания проявляется в возрасте 4-18 лет
- Прогрессирующая наружная офтальмоплегия
- Пигментный ретинит
- Атаксия, интенционный тремор
- Атриовентрикулярная блокада сердца
- Повышение уровня белка в цереброспинальной жидкости более 1 г/л
- "Рваные" красные волокна в биоптатах скелетных мышц

## Наследственная атрофия зрительных нервов Лебера

- Материнский тип наследования
- Дебют заболевания в возрасте 20-30 лет
- Острое или подострое снижение остроты зрения на один или оба глаза
- Сочетание с неврологическими и костно-суставными нарушениями
- Микроангиопатия сетчатки
- Прогрессирующее течение с возможностью ремиссии или восстановления остроты зрения

## **Синдром NARF (невропатия, атаксия, пигментный ретинит)**

- Материнский тип наследования
- Сочетание невропатии, атаксии и пигментного ретинита
- Задержка психомоторного развития
- Деменция
- Наличие "рваных" красных волокон в биоптатах мышечной ткани

## **Синдром MERRF (миоклонус-эпилепсия, "рваные" красные волокна)**

- Материнский тип наследования
- Дебют заболевания в возрасте 3-65 лет
- Миоклоническая эпилепсия, атаксия, деменция в сочетании с нейросенсорной глухотой, атрофией зрительных нервов и нарушениями глубокой чувствительности
- Лактат-ацидоз
- При проведении ЭЭГ обследования выявляются генерализованные эпилептические комплексы "полиспайк-медленная волна"
- "Рваные" красные волокна в биоптатах скелетных мышц
- Прогрессирующее течение

## Синдром MELAS (митохондриальна энцефаломиопатія, лактат-ацидоз, інсультopodobні епізоди)

- Материнський тип успадкування
- Дебют захворювання в віці до 40 років
- Непереносимість фізичних навантажень
- Мигренеподобні головні болі з тошнотой і блювотою
- Інсультopodobні епізоди
- Судороги
- Лактат-ацидоз
- "Рвані" червоні волокна в біоптатах м'язів
- Прогресуюче перебіг

## Митохондриальні енцефалопатії

- **Синдром Лея** (підостра некротизуюча енцефаломієлопатія)  
Проявляється після 6 місяців життя наростаючою м'язовою гіпотонією, атаксією і нистагмом, пірамідними симптомами, офтальмоплегією і атрофією зрительних нервів. Часто відзначається приєднання кардіоміопатій і легкого метаболічного ацидоза.
- **Синдром Альперса** (прогресуюча склерозуюча полідистрофія)  
Дегенерація сірого речовини мозку в поєднанні з циррозом печінки

## Дефицит пируваткарбоксилазы

- Аутосомно-рецессивный тип наследования
- Дебют заболевания в неонатальном периоде
- Симптомокомплекс "вялого ребенка"
- Судороги, резистентные к терапии
- Высокие концентрации кетоновых тел в крови, гипераммониемия, гиперлизинемия
- Снижение активности пируваткарбоксилазы в скелетных мышцах

## Дефицит пируватдегидрогеназы

### *В неонатальном периоде*

- Черепно-лицевая дизморфия
- Судороги, резистентные к терапии
- Нарушение дыхания и сосания
- Симптомокомплекс "вялого ребенка"
- Дисгинезии мозга
- Выраженный ацидоз с высоким содержанием лактата и пирувата
- Снижение активности пируватдегидрогеназы

## Дефицит пируватдегидрогеназы

*На первом году жизни*

- Микроцефалия
- Задержка психомоторного развития
- Атаксия
- Мышечная дистония
- Хореоатетоз
- Лактат-ацидоз с высоким содержанием пирувата
- Снижение активности пируватдегидрогеназы



Митохондриальная болезнь

Просеквенированный ген тРНК – лейцин.

Найдены мутации 3624A/G,3705G/A



Митохондриальная болезнь  
Просеквенированный ген тРНК – лизин.  
Найдены мутации 8836A/G (met/val), 8472C/T(pro/leu2), 8614T/C



Митохондриальная болезнь  
Проведен полный сиквенс мтДНК. Найдены мутации  
1888G/A, 2706A/G, 8697G/A, 8860G(thr/ala), 11251A/G,  
11719G/A, 11812A/G, 14687A/G, 14766C/T, 14905G/A, 15326A/G,  
15452C/A, 15607A/G, 15928G/A.

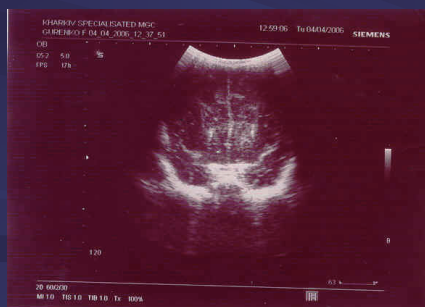


## MELAS Синдром

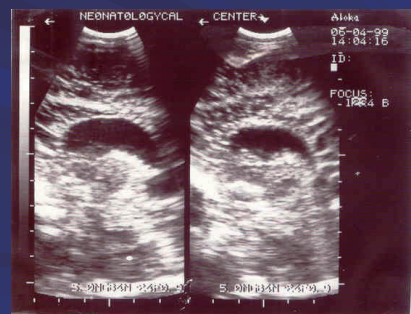
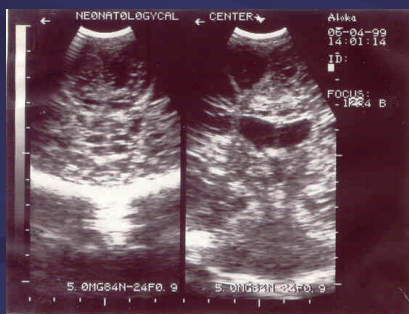
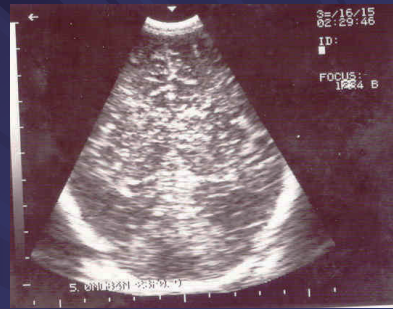
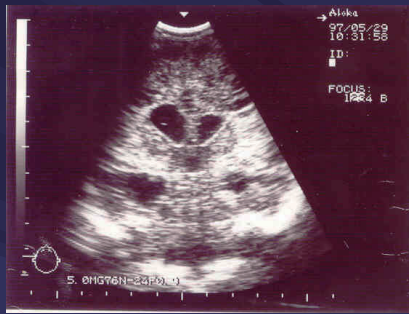


Проведен полный секвенс мтДНК. Найдены мутации 14470T/C, 14766C/T, 15326A/G.

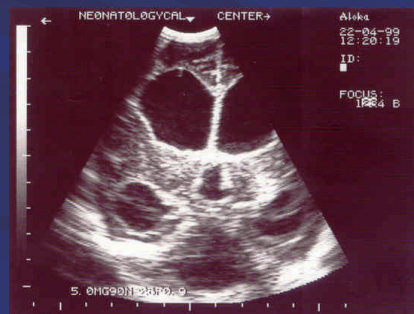
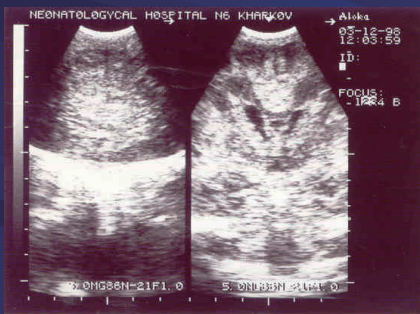
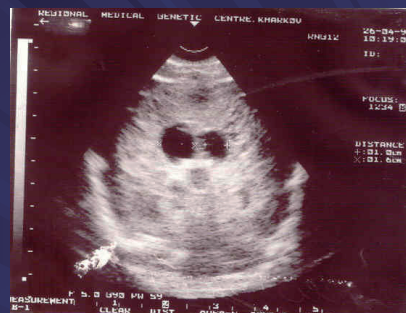
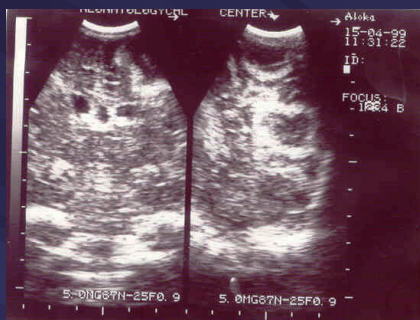
## Нейросонограммы больных с НБО

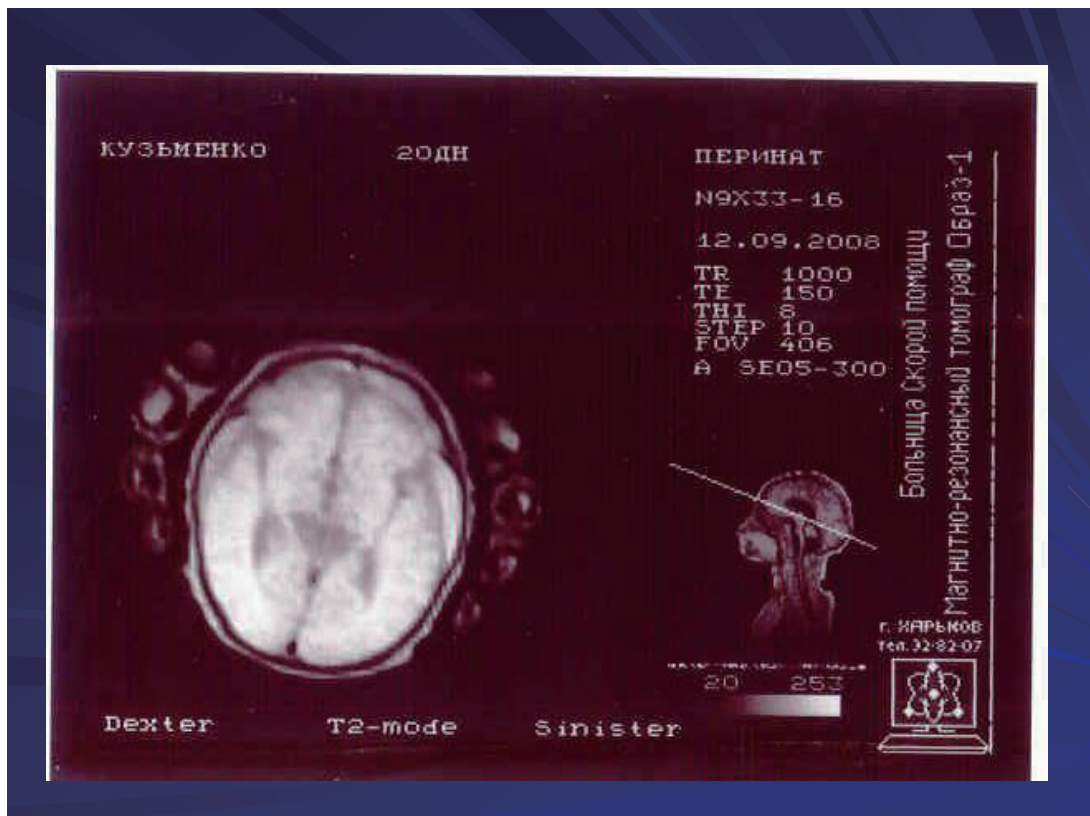
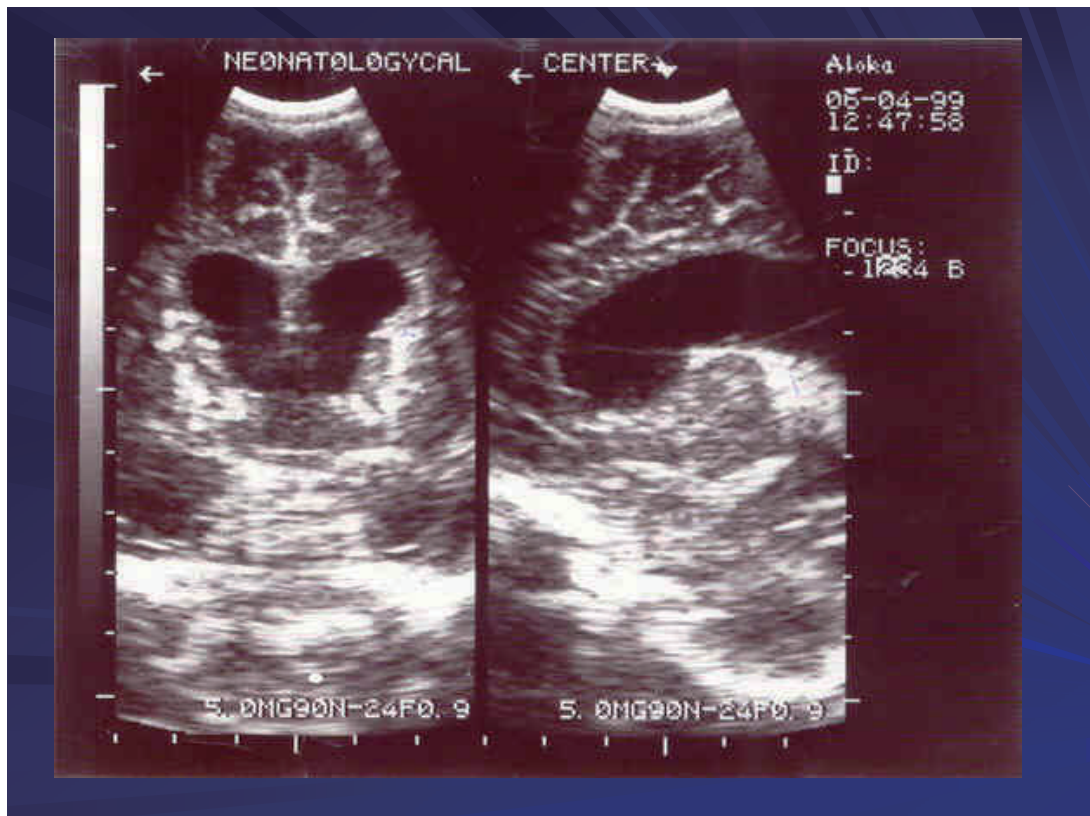


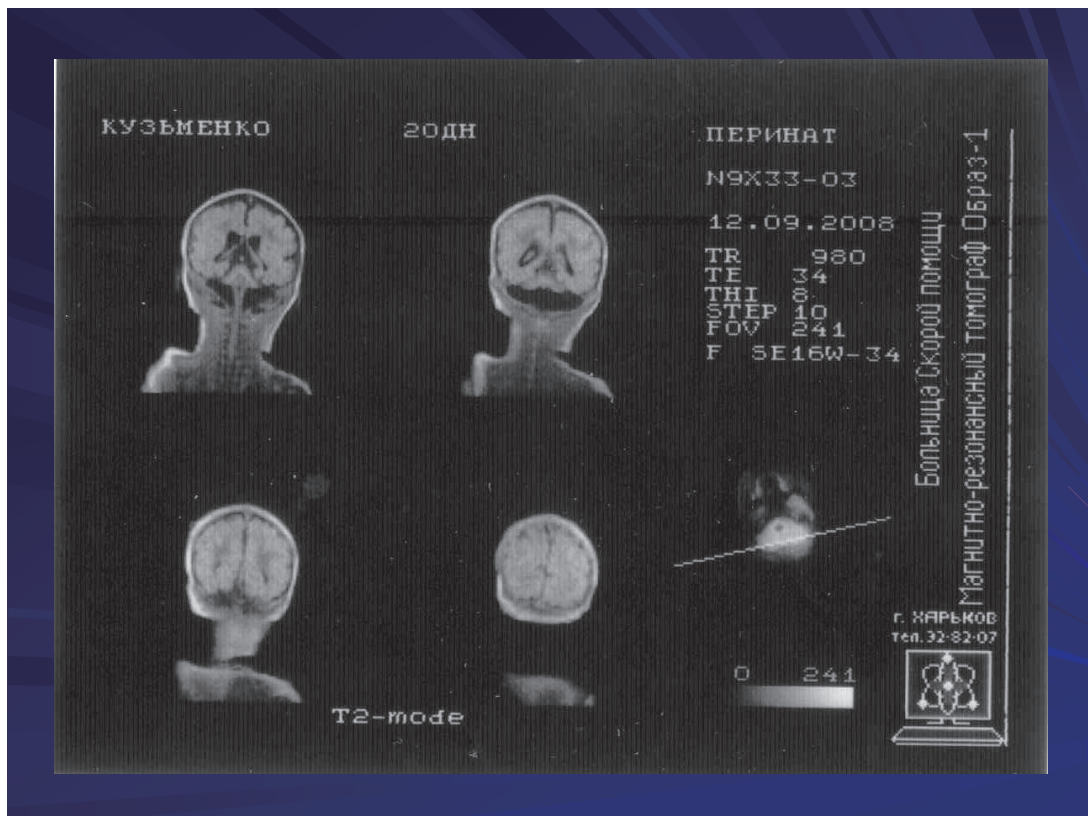
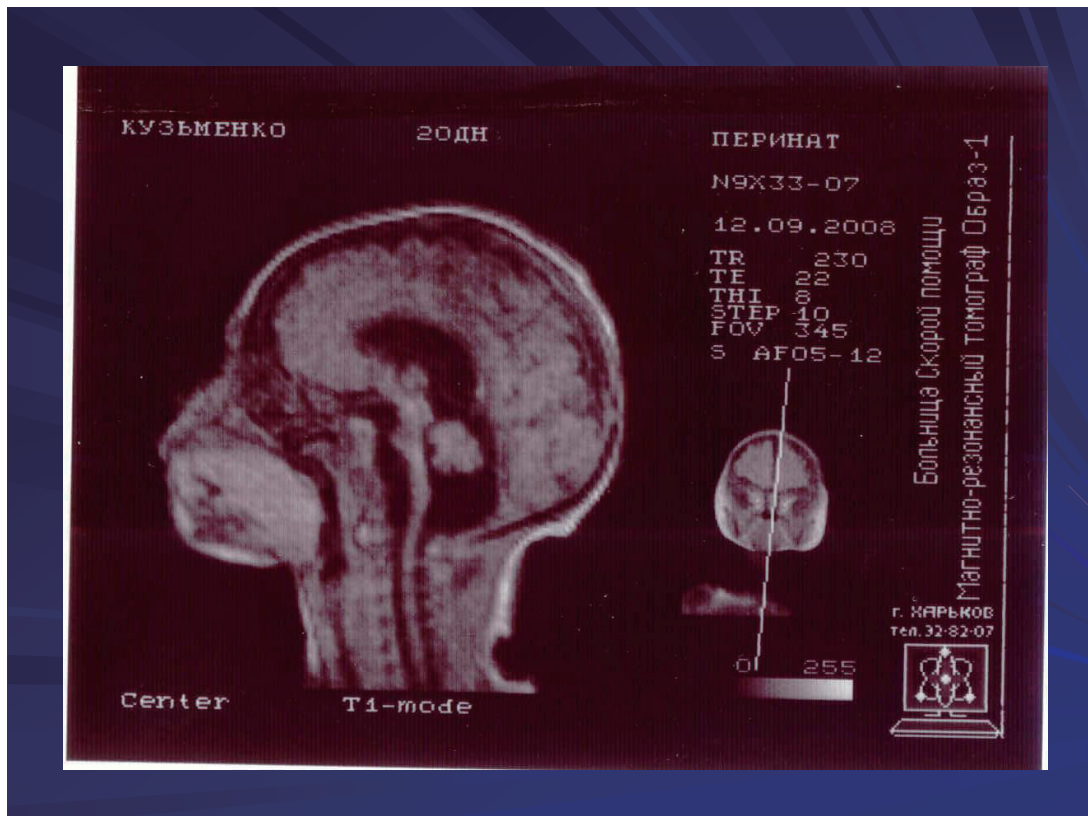
### Нейросонограммы больных с НВО

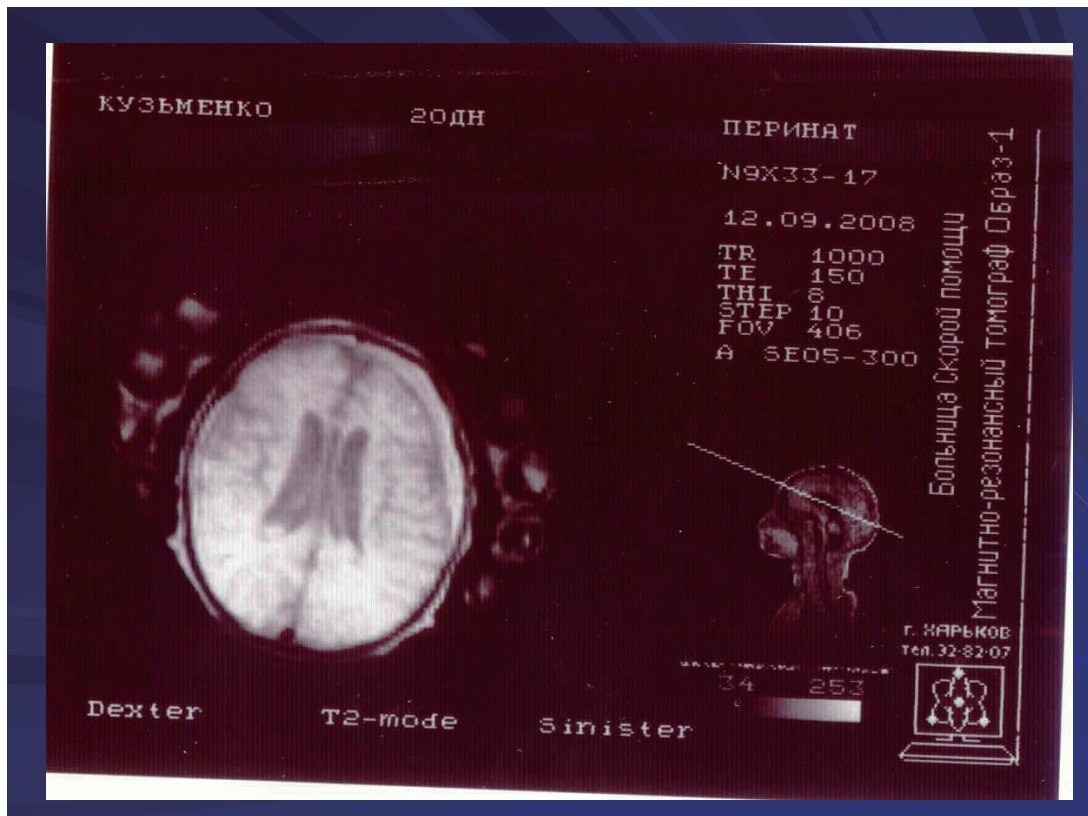


### Нейросонограммы больных с НВО









## Методы лечения митохондриальных заболеваний

Нозологическая форма/энзимный дефект	Основные рекомендуемые курсы терапии
Синдром Кернса-Сейра Хроническая прогрессирующая наружная офтальмоплегия	Диета со сниженным содержанием углеводов (до 10г/кг) Коэнзим Q <sub>10</sub> 90 - 200 мг в сутки Цитохром С 4,0 в/м или в/в N 10 L-карнитин 50 мг/кг Димефосфон 30 мг/кг Витамин С до 2 г в сутки Витамин Е до 300 - 500 мг в сутки
Митохондриальная энцефаломиопатия, лактат-ацидоз, инсультподобные эпизоды (MELAS)	Диета со сниженным содержанием углеводов (до 10г/кг) Коэнзим Q <sub>10</sub> 90 - 300 мг в сутки. Янтарная кислота 10 мг/кг Цитохром С 4,0 в/м или в/в N 10 Никотинамиддо 500 мг в сутки Рибофлавин 100 мг в сутки L-карнитин 50 - 75 мг/кг Димефосфон 30 мг/кг Витамин С до 2 г в сутки Витамин Е до 300 - 500 мг в сутки

## Методы лечения митохондриальных заболеваний

Нозологическая форма/энзимный дефект	Основные рекомендуемые курсы терапии
Подострая некротизирующая энцефаломиопатия Лея/дефицит пируваткарбоксилазы Лактат-ацидоз/дефицит пируваткарбоксилазы	Кетогенная диета с повышенным содержанием жиров (до 75 % калорийности рациона) Биотин 10 мг в сутки Димефосфон 30 мг/кг
Фумаровая ацидурия	Диета, обогащенная углеводами; частое кормление Цитохром С 4,0 в/м или в/в N 10 Коэнзим Q <sub>10</sub> 60 - 90 мг в сутки
α-Кетоглутаровая ацидурия	Тиамин 50 - 200 мг в сутки Липоевая кислота 100 - 500 мг в сутки Димефосфон 30 мг/кг
Синдром Барта	Коэнзим Q <sub>10</sub> 90 - 200 мг в сутки Цитохром С 4,0 в/м или в/в N 10 Янтарная кислота 10 мг/кг L-карнитин до 100 мг/кг Димефосфон 30 мг/кг Витамин С до 1 г в сутки Витамин Е до 300 мг в сутки

## Методы лечения митохондриальных заболеваний

Нозологическая форма/энзимный дефект	Основные рекомендуемые курсы терапии
Подострая некротизирующая энцефаломиопатия Лея/дефицит пируватдегидрогеназного комплекса Лактат-ацидоз/дефицит пируватдегидрогеназного комплекса	Кетогенная диета с повышенным содержанием жиров (до 75 % калорийности рациона) Тиамин 50 - 200 мг в сутки Липоевая кислота 100 - 500 мг в сутки Димефосфон 30 мг/кг
Глутаровая ацидурия II типа	Диета со сниженным содержанием жиров (15 % калорийности рациона) и белков (<20 %), повышенным содержанием углеводов (65-70 %) L-карнитин 100 мг/кг в сутки Рибофлавин до 150 мг в сутки
Дефицит ацил-КоА дегидрогеназы жирных кислот с различной длиной цепи	Диета со сниженным содержанием жиров (15-20 % калорийности рациона) и повышенным содержанием углеводов (более 60 %), частое дробное питание L-карнитин до 100 мг/кг в сутки Рибофлавин 25 - 50 мг в сутки

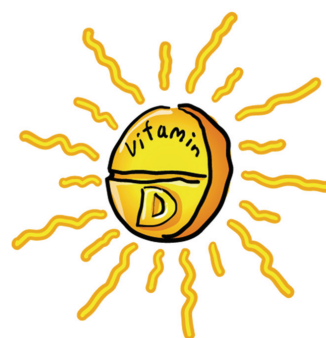


## Нарушение обмена витамина D как метаболическая проблема

Лесняк С.В.

ХМСМГЦ-ЦР(О)З  
Харьков, Украина

ХНМУ  
Харьков, Украина



## Эволюция знаний о витамине D



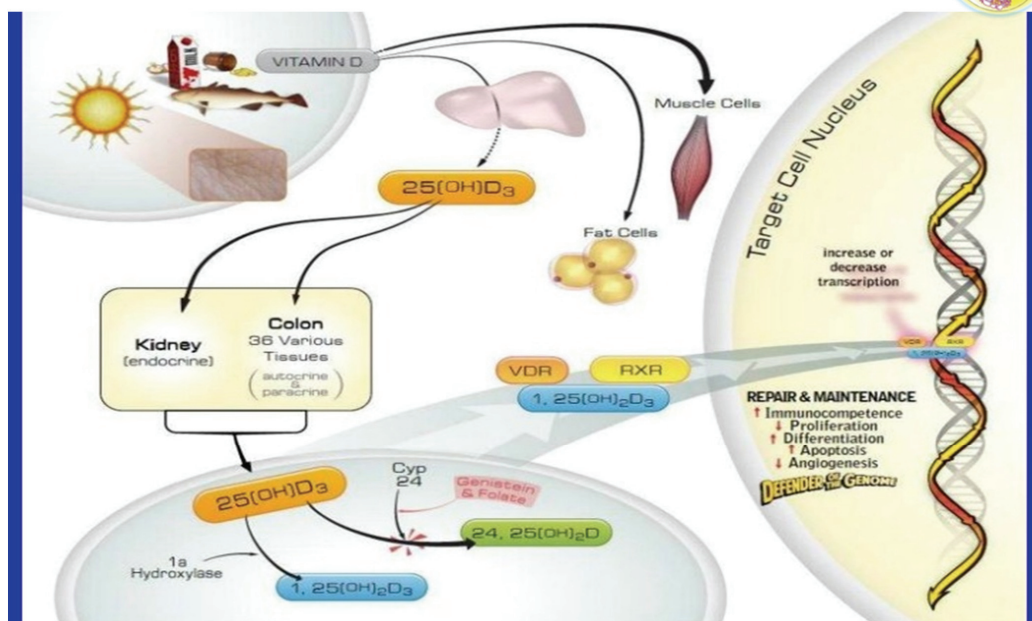
- 1913 г. – витамин D необходим для роста организма
- 1919 г. – уменьшение выраженности рахита солнечными ваннами
- 1948 г. – влияние на туберкулёз
- 1950 г. – противоопухолевый эффект
- 1952 г. – антидиабетический эффект
- 1967 г. – иммуностимулирующий эффект
- 1970 г. – выделены активные формы витамина D
- 1979 г. – обнаружен VDR
- 2000-е гг. – нейростероидная, нейропротекторная, нейротрофические роли
- 2010-настоящее время – эпигенетическая роль

## Система вітаміна D



- эргокальциферол (вітамін D3, **инертная форма**)  
– синтезується в шкірі, поступає з препаратами
- холекальциферол (вітамін D2, **инертная форма**)  
– поступає з їжею і препаратами 25-OH-D – малоактивна проміжочна форма (утворюється з допомогою 25-гідроксилази (CYP2R1) з D3, печінка)
- 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D – **активная форма** (утворюється з допомогою 1-α-гідроксилази (CYP27B1), нирки)
- ядерні рецептори вітаміна D (VDR) – активуються з допомогою 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D

## Компоненти метаболізму вітаміна D



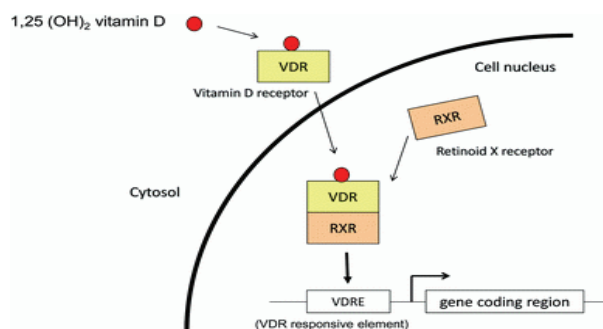


## Ядерные рецепторы VDR



«Генетика предполагает, а эпигенетика располагает» (Питер Медавар)

- обнаружены в 36 тканях и органах
- влияют на транскрипцию более 2700 генов (О.А. Громова, 2017)



Всего ~ 25000 генов



• 2727 генов VDR (10%)

• 7-10% гомеостаз Са и Р  
(Шварц, 2005; Giovannucci, 2009)

## Классификация дефицита витамина D

(Endocrine Practice Guidelines Committee, 2011)

**норма 25-OH-D** (Michael F. Holick, 2009) **30-100 нг/мл**

- Дефицит – менее 21 нг/мл
- Недостаточность – 21-29 нг/мл

~~1,25-OH-D~~ – период полураспада  
менее 4 часов (25-OH-D 15 суток)



## Международные нормы



*Международное эндокринологическое общество:*

- норма – более 30 нг/мл
- недостаточность – 20-30 нг/мл
- дефицит – менее 20 нг/мл



*Канадское общество экспертов по изучению  
витамина D «The Vitamin D Society»*

- норма – 40-60 нг/мл



*Институт медицины США:*

- норма – более 20 нг/мл
- недостаточность – 12-20 нг/мл
- дефицит – менее 12 нг/мл



*Федеральная комиссия по питанию Швейцарии, Испанское общество исследования костей и минерального обмена:*

- норма – более 30 нг/мл
- недостаточность – 20-29 нг/мл
- дефицит – менее 20 нг/мл

**Диагностика дефицита витамина D**

(О.А. Громова, 2017)



- 25-ОН-D – состояние **обеспеченности** витамином D
- 1,25-ОН<sub>2</sub>-D – состояние **биосинтеза активной формы** витамина D (железодефицитная анемия, гестационный диабет, рассеянный склероз, нарушение остеогенеза)
- 24,25-ОН<sub>2</sub>-D – **биodeградация** витамина D (почечная недостаточность)



Известно более 50 метаболитов витамина D

## Распространённость дефицита витамина D



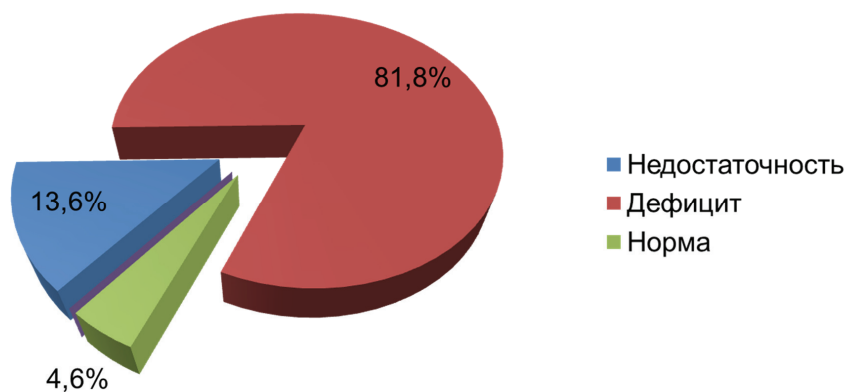
Если длина вашей тени длиннее роста, не вырабатывается достаточное количество витамина D (международные рекомендации по питанию DSM, 2005)



## Частота дефіцита и недостаточности витамина D среди населения Украины



(В.В. Поворознюк, Н.И. Балацкая, 2016)



## Дефицит витамина D у беременных и кормящих женщин (Lee et al., 2007)



- 73% беременных и кормящих
- 80% их детей

## Причины дефицита витамина D

(Holick, 2007; Kulie et al., 2009; Wagner, Greer et al., 2008)



- снижение синтеза витамина D в коже (солнцезащитные крема, пигментация, климат)
- недостаток в питании продуктов с высоким содержанием витамина D (печень трески, угорь, лосось)
- дисфункция билиарного тракта, ожирение
- новорожденные: дефицит витамина D в молоке матери
- снижение синтеза 25-ОН-D при дисфункции печени
- снижение синтеза 1,25-ОН-D при дисфункции почек
- мальабсорбция
- лечение антиконвульсантами и глюкокортикоидами
- коморбидная патология (онкопатология, гиперпаратиреоз, гипертиреоз и т.д.)

## Значение дефицита витамина D



## Важные эффекты витамина D



- регулирует эмбриональное развитие (ацетилирование гистонов, развитие сердца и ангиогенез, сигнальный путь апоптоза)
- синтез АТФ (цепь переноса электронов)
- транспорт глюкозы, активность рецепторов инсулина
- синаптическая передача сигнала
- противовирусный иммунитет (в т.ч. синтез интерферона)



- дефицит витамина D во время беременности в 1,6 раза повышает риск СЗРП (*Chen Y., 2017*) и приводит к замедлению моторного развития и тонкой моторики к 2,5 годам, к ухудшению социального развития к 3,5 годам (*Darling Al et al., 2017*)
- низкий уровень витамина D в крови беременной приводит к 4-кратному увеличению уровня аутоантител к тканям головного мозга плода (вследствие нарушения синтеза кинуренина в плаценте)
- дефицит витамина D во время беременности программирует алекситемию у детей

- в иммунных клетках стимулирует апоптоз активированных В-лимфоцитов, что приводит к уменьшению синтеза аутоантител (*Gatti D, Idolazzi L, Fassio A, 2016*)
- ингибирует вирус гепатита С (*Gutierrez J.A. et al., 2004*)
- стабилизирует структуру эндотелия сосудов при физиологически значимых концентрациях (*Gibson C.C. et al., 2015*)
- ингибирует пролиферацию раковых клеток (*Thomas M.G., Tebutt S., Williamson R.C.*)



- стимулирует экспрессию антиоксидантных генов
- дефицит витамина D приводит к глобальному гипометилированию генома (*Haidong Zhu, Jigar Bhagatwala et al. 2016*)
- способствует наступлению ремиссии рассеянного склероза, ревматоидного артрита (*Smolders J. et al, 2008*)
- дефицит ассоциирован с мышечной гипотонией и саркопенией (*Muller M.J., Volmer D.A., 2015*)



## Лечебные дозы витамина D3 (при выявлении дефицита)



	МЕ в сутки
новорожденные	1000
1-12 месяцев	1000-3000 (в зависимости от веса)
1-18 лет	3000-5000
старше 18 лет	7000-10000

## Группы риска (взрослые пациенты, *Michael F. Holick*)



	МЕ в сутки
Онкология и онкогенетические синдромы	800-2000
Ожирение, сахарный диабет, глюкозотолерантность	5000-8000
Спорт высоких достижений	5000-6000
Туберкулёз, вираж пробы Манту	2000-5000
Нейродегенеративные заболевания	2000-4000
Артериальная гипертония, ИБС	2000-4000

## «Эпидемия» расстройства аутистического спектра



- 2009 г. – 1:110
- 2012 г. – 1:88
- 2014 г. – 1:63
- 2017 г. – 1:50



- каждые 20 минут регистрируется новый случай РАС
- на начало 2015 г. в мире насчитывалось 67 млн больных с РАС
- за 5 лет (с 2009 по 2013 г.) заболеваемость РАС, согласно официальным статистическим данным МОЗ Украины, возросла на 194%: с 17,0 до 48,2 на 100 000 детского населения



## Факторы в пользу связи РАС и дефицита витамина Д



- частота РАС выше в популяциях с низкой инсоляцией
- удельная доля пациентов с РАС среди темнокожей популяции выше, чем среди светлокожей
- манифестация РАС – около 1-1,5 лет, нередко совпадает с периодом отлучения от груди
- активирует транскрипцию гена триптофан-гидроксилазы 2 (TRH2) – повышается синтез серотонина в головном мозге (Patrick RP, Ames BN, 2014)

- большинство детей с РАС рождаются зимой или в марте

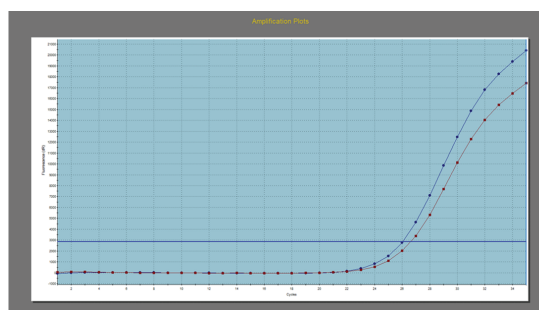
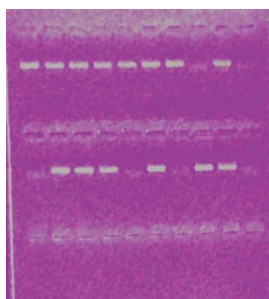


- дети с рахитом вялые, апатичные, малоконтактные; дети с синдромом Вильямса (на первом году жизни повышенный уровень витамина Д и гиперкальциемия) – чрезмерно контактные, обладают повышенной общительностью
- препятствует повышению уровня кальция в головном мозге, который опосредует эксайтотоксичный эффект глутамата
- увеличивает концентрацию глутатиона – препятствует накоплению тяжёлых металлов, фенолов

## Собственные данные (основная группа 74, контрольная 46)



- уровень витамина D (25-ОН-D) в крови детей с РАС был снижен в 88,8% случаев, в контрольной – в 56,4%;
- уровень гомоцистеина в крови у детей основной группы был повышен в 98,65% случаев, в контрольной – в 45,62%.



	ОГ (n=74)	КГ (n=46)	Популяционная частота (Е.Я. Гречанина, R.Matalon, 2008, n=1938)
VDR Bsm I BB	21 (28.38%)	19 (41.31%)	
VDR Bsm I Bb	40 (54.05%)	26 (56.52%)	
VDR Bsm I bb	13 (17.57%)	1 (2.17%)	
MTHFR 677 C/C	32 (43.24%)	25 (54.35%)	48.0%
MTHFR 677 C/T	35 (47.30%)	17 (36.95%)	43.3%
MTHFR 677 T/T	7 (9.46%)	4 (8.70%)	8.7%
MTRR 66 A/A	20 (27.02%)	10 (21.74%)	21.2%
MTRR 66 A/G	30 (40.54%)	23 (50.00%)	41.8%
MTRR 66 G/G	24 (32.44%)	13 (28.26%)	37.0%
MTR 2756 A/A	35 (47.30%)	31 (67.39%)	
MTR 2756 A/G	32 (43.24%)	12 (26.09%)	
MTR 2756 G/G	7 (9.46%)	3 (6.52%)	

## Выводы



- система витамина D играет важную роль в поддержании эпигенетического здоровья организма
- удельный вес дефицита витамина D занимает одно из ведущих мест среди метаболических нарушений при широком спектре патологии человека

- сочетание нарушения обмена витамина D и полиморфизмов в генах ферментов фолатно-метионинового цикла, возможно, имеет этиопатогенетическое значение в развитии РАС ввиду синергического влияния на процессы метилирования
- исследование уровня активного метаболита витамина D у женщин при проведении преконцепционной подготовки и во время беременности имеет важное значение как один из компонентов пренатального программирования рождения здорового ребёнка

СПАСИБО ЗА ВНИМАННЯ!



## СТРУКТУРА И ФУНКЦИЯ ДНК

Вероятно, 20-й век запомнится историкам биологической науки открытием структуры ДНК и механизмов ее кодирования, а также механизмов, с помощью которых информация, зашифрованная в ДНК, переносится в аминокислотную последовательность белков. Хотя история генетики человека не начинается с молекулярной биологии, она на ней не заканчивается, поскольку накопленные знания сейчас интегрируются для объяснения действия сложных биологических систем. Молекулярная биология, однако, остаётся ключевым двигателем прогресса в биологическом понимании.

Молекула ДНК хранит биологическую информацию в виде генетического кода, состоящего из последовательности нуклеотидов. ДНК содержит информацию о структуре различных видов РНК и белков.

ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота) — это линейный органический полимер. Его мономерные звенья нуклеотиды, которые, в свою очередь, состоят из:

- азотистого основания;
- пятиуглеродного сахара (пентозы);
- фосфатной группы.

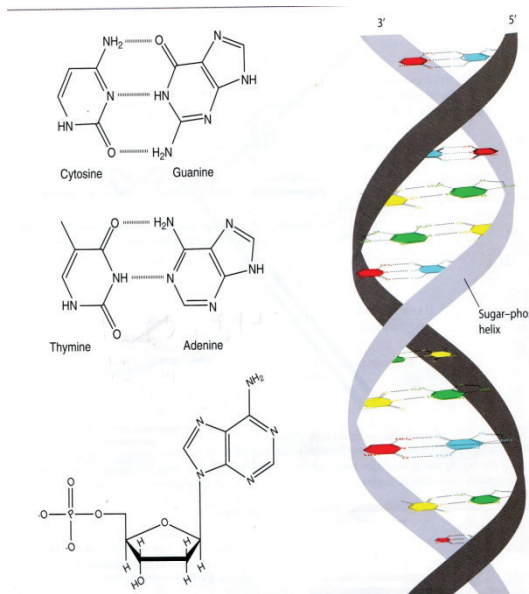


Рис. 1. Структура ДНК.

**Основания в ДНК бывают двух типов:**

*Пуриновые:* аденин (А) и гуанин (G);

*Пиримидиновые:* цитозин (С) и тимин (Т).

Каждая нить ДНК состоит из чередующихся молекул дезоксирибозы, объединённых фосфодиэфирными соединениями из 5'-положения одной дезоксирибозы к 3' положению следующей.

Навитые одна на другую полинуклеотидные цепи удерживаются вместе водородными связями, образующимися между комплементарными основаниями противоположных цепей. При этом аденин образует пару только с тимином, а гуанин — с цитозином. Пара оснований А—Т стабилизируется двумя водородными связями, а пара G—C — тремя. Вместе эти нити образуют правозакрученную двойную спираль. Две нити идут в противоположном (антипараллельном) направлении, таким образом, что одна простирается от 5' до 3', а другая — от 3' до 5' концов.

Длина двухцепочечной ДНК обычно измеряется числом пар комплементарных нуклеотидов (п.н.). Для молекул ДНК, состоящих из тысяч или миллионов пар нуклеотидов, приняты единицы т.п.н. и м.п.н. соответственно. Например, ДНК хромосомы 1 человека представляет собой одну двойную спираль длиной 263 м.п.н.

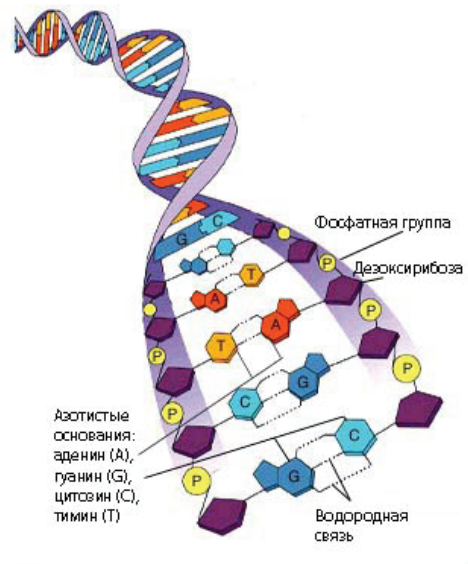


Рис. 2. Азотистые основания в двойной спирали ДНК стабилизированы водородными связями.

**Функции ДНК:**

1) обеспечивает сохранение и передачу генетической информации от клетки к клетке и от организма к организму, что связано с ее способностью к репликации;

Репликація забезпечує копіювання генетичної інформації та передачу її з покоління в покоління, генетичну ідентичність дочірніх клітин, що утворюються в результаті митозу, та постійність числа хромосом при митотичному поділі клітин.

2) регуляція всіх процесів, що відбуваються в клітині, забезпечувана здатністю до транскрипції з наступною трансляцією.

3) На ДНК здійснюється синтез РНК, тобто ДНК відповідає за передачу генетичної інформації в цитоплазму. Синтез білка відбувається в цитоплазмі, а його синтез здійснює РНК. А на ДНК синтезується саме РНК. Причому існують три види: інформаційна, транспортна та рибосомальна. РНК синтезується на одній з ланцюгів ДНК також за принципом комплементарності (як це відбувається при удвоєнні ДНК). Далі інформаційна РНК визначає послідовність амінокислот в білку, транспортна РНК — доставляє амінокислоти до місця синтезу, а рибосомальна РНК входить до складу рибосоми, де відбувається синтез білка. Синтез РНК на ДНК називається *транскрипцією*, а синтез білка на РНК — *трансляцією*.

В ДНК також містяться послідовності нуклеотидів, що не кодують білок. Роль цієї інформації в повній мірі не вивчена та невідома.

Передумовами до відкриття молекули ДНК як одиниць спадковості були відкриття ряду вчених. Мендель в 1856 р. описав домінуючу та рецесивну спадковість до того, як була введена концепція гена та як була відома хімічна основа спадковості.

ДНК як молекула, що знаходиться в ядрі живої клітини, була відкрита дуже давно, ще в 60-х роках XIX століття. Це відкриття зробив швейцарський лікар Мішер. Було встановлено, що генетичний матеріал знаходиться в ядрі клітини, а ДНК, як відомо, є основним хімічним компонентом.

Поступово було доведено, що саме ДНК, а не білки, як вважалося раніше, є носієм генетичної інформації. Одні з перших вирішальних доказів принесли експерименти Освальда Евери та його колеги, які продемонстрували, що фенотип гладких або грубих колоній бактерій пневмококка може передаватися від клітини до клітини тільки через ДНК.

Впродовж 50-х років XX століття точна будова ДНК, як і спосіб передачі спадкової інформації, залишалося невідомим. Хоча і було доподібно відомо, що ДНК складається з кількох ланцюгів, що складаються з нуклеотидів, ніхто не знав точно, скільки цих ланцюгів та як вони з'єднані.

В 1953 р. Джеймс Уотсон та Френсіс Крік, виходячи з даних рентгеноструктурного аналізу кристалів ДНК, дійшли до висновку, що нативна ДНК складається з двох полімерних ланцюгів, що утворюють подвійну спіраль.

В 1960-х роках доктор Віктор Маккьюсік та його колеги з Медичної школи Джона Хопкінса почали каталогізувати гени та генетичні риси людини. Перше видання каталогу «Менделівська спадковість людини» було опубліковано в 1966 році. Внаслідок цього з'явилися декілька друкованих видань, а зараз каталог підтримується в Інтернеті як «онлайн-менделівська спадковість людини» (OMIM), що знаходиться за адресою [www.omim.org](http://www.omim.org). OMIM визнаний авторитетним джерелом інформації про гени людини та генетичні ознаки. В каталозі можна знайти ген, фенотип, локус генів та багато інших функцій. В каталозі представлено короткий огляд гена або ознаки, включаючи короткий опис клінічних ознак, пов'язаних з мутаціями. Існують посилання на інші бази даних, що забезпечують доступ до генних та амінокислотних послідовностей, мутацій та так далі.

### **Уровні організації структури ДНК**

ДНК в кожній клітинній ядрі повинна бути дуже ущільнена для розміщення всього геному в дуже маленькому просторі. Величезний ділянку ДНК, який містить кожен хромосом, насправді є високоорганізованою структурою.

Прийнято виділяти 3 рівні структури ДНК:

**Первинна структура ДНК** — це послідовність розташування нуклеотидів в полінуклеотидній ланцюзі ДНК.

**Вторинна структура ДНК** стабілізується водородними зв'язками між комплементарними парами основ та представляє собою подвійну спіраль з двох антипаралельних ланцюгів, закручених навколо однієї осі. Загальний виток спіралі — 3,4 нм, відстань між ланцюжками 2 нм.

**Третинна структура ДНК** — **суперспіралізація ДНК**. Подвійна спіраль ДНК на деяких ділянках може піддаватися подальшій спіралізації з утворенням суперспіралі або відкритої кільцевої форми, що часто викликане ковалентним з'єднанням їх відкритих кінців. Суперспіральна структура ДНК забезпечує економічну упаковку дуже довгої молекули ДНК в хромосомі. Так, в витягнутій формі довжина молекули ДНК становить 8 см, а в формі суперспіралі вкладається в 5 нм.



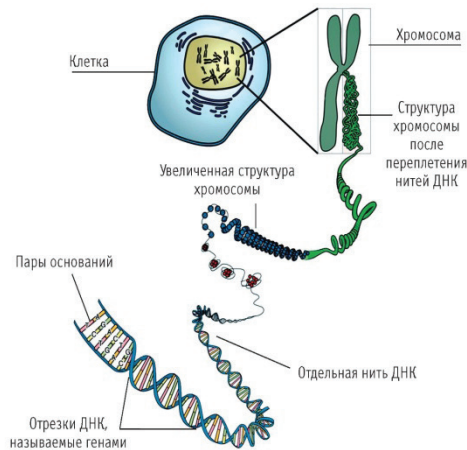


Рис.3. Уровни организации структуры ДНК.

Фундаментальной единицей хроматина является нуклеосома, которая состоит из 146 пар оснований ДНК вокруг ядра, состоящие из двух копий каждого из четырёх белков гистона (H2A, H2B, H3, H4). Они располагаются как «шарики на верёвочке». Диаметр нуклеосомы — 11 нм. Нуклеосомы, в свою очередь, конденсируются в структуру размером 30 нм. Затем происходит скручивание и конденсация для образования метафазной хромосомы.

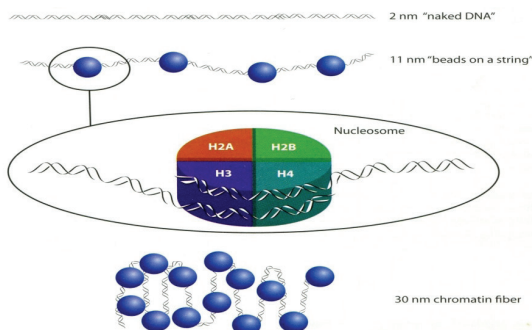


Рис. 4. Нуклеосомы.

### Интересные факты о ДНК

Одна молекула ДНК человека вмещает порядка 1,5 гигабайта информации. При этом, ДНК всех клеток человеческого организма занимают 60 млрд. терабайт, что сохраняются на 150-160 граммах ДНК.

**Международный день ДНК** отмечается 25 апреля. Именно в этот день в 1953 году Джеймс Уотсон и Фрэнсис Крик опубликовали в журнале Nature свою статью под названием «Молекулярная структура нуклеиновых кислот», где описали двойную спираль молекулы ДНК.

Нить ДНК это действительно наноструктура, по крайней мере, ее толщина очень маленькая.

Длина ее может быть огромной, в зависимости от того, какой длины молекула ДНК. Например, если вытянуть все молекулы ДНК в ядре нашей одной только клетки, то получится колонна толщиной 2 нанометра, а длиной почти 2 метра. И вся эта тонюсенькая длинная молекула оказывается упакована внутри клеточного ядра.

Геном человека состоит из более чем 3 миллиардов базовых пар оснований ДНК, находящихся в 23 парах хромосом. Каждая хромосома состоит из одной непрерывной молекулы ДНК, охватывающей от десятков до сотен миллионов пар оснований.

### Репликация ДНК

**Репликация ДНК** – это процесс удвоения родительских молекул ДНК во время воспроизводства клеток живых организмов. То есть процесс репликации предшествует делению клеток. Основные принципы репликации:

Матричный процесс – при репликации цепи молекулы ДНК расходятся и каждая из них становится матрицей, на которой синтезируется новая комплиментарная цепь.

Комплиментарность – нуклеотиды новых цепей спариваются комплементарно с нуклеотидами старых цепей (А с Т, Г с Ц). В результате образуются две дочерние двуспиральные молекулы ДНК, не отличимые от родительской молекулы.

Фрагментарность или полунепрерывность – синтез одной цепи (лидирующей) происходит непрерывно, а другой (отстающей) – импульсно, нити ДНК синтезируются в виде фрагментов, которые затем соединяются между собой.

Полуконсервативность – каждая молекула ДНК состоит из одной цепи исходной родительской молекулы и одной вновь синтезированной цепи.

Антипараллельность – каждая вновь синтезированная цепь антипараллельна родительской (матричная цепь ДНК 3' – 5', а синтезируемая ДНК 5' – 3').

Потребность в праймере – для начала синтеза ДНК необходимы РНК-праймеры, которые транскрибируются ДНК-зависимой РНК-полимеразой (праймазой) и инициируют репликацию.

Недорепликация теломерных концов – удаление крайних РНК-праймеров, комплементарных 3'-концам обеих цепей линейной «материнской» молекулы ДНК, приводит к тому, что дочерние цепи оказываются короче на 10-20 нуклеотидов.

### Основные ферменты репликации:

**Топоизомераза** – разрывает фосфодиэфирные связи, снимая напряжение,

вызываемое расплетением спирали и расхождением цепей в репликативной вилке.

**Геликаза** – Осуществляет расплетение двойной цепи на одинарные, используя энергию гидролиза АТФ.

**Праймаза** – фермент, обладающий РНК-полимеразной активностью; служит для образования РНК-праймеров, необходимых для инициации синтеза ДНК.

**ДНК-полимераза (I, II, III)** – синтезирует новую цепь ДНК по принципу комплементарности

**Лигаза** – сшивание фрагментов Оказаки в единую цепь путем образования фосфодиэфирных связей между двумя полинуклеотидами.

**ДНК-связывающие белки (SSB-белки)** – дестабилизируют спираль, связываются с одноцепочечным участком и фиксируют его от скручивания.

**Теломераза** – достраивает концевые (теломерные) участки ДНК, которые остаются недореплицированными в ходе удвоения ДНК.

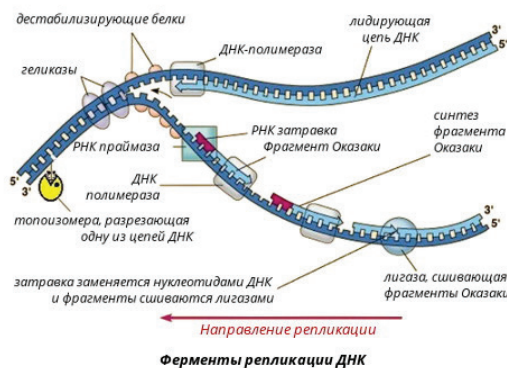


Рис. 5. Схема репликации – репликативная «вилка»

### Этапы репликации

Репликация ДНК у эукариот происходит на определенной стадии клеточного цикла, а именно в синтетической (S) фазе. Время репликации ДНК млекопитающих составляет 6-8 часов.

1. **Инициация репликации** – происходит деспирализация и образование РНК-праймера с помощью ДНК-зависимой РНК-полимеразы.

2. **Элонгация** – ДНК-полимераза III присоединяется к праймеру и синтезирует по принципу комплементарности цепь ДНК. Репликация ДНК эукариотической хромосомы осуществляется посредством разделений

ее на множество отдельных репликонов и репликативных вилок. Рост цепи происходит в направлении 5'—3'. На лидирующей цепи синтез ДНК происходит непрерывно, а на отстающей цепи идет синтез коротких фрагментов также от 5' к 3', однако они синтезируются в направлении, противоположном движению вилки, причем синтез каждого начинается с построения отдельного праймера. Длина фрагментов составляет 1000-2000 пн. Они названы «фрагментами Оказаки» по имени открывшего их ученого. Фрагменты Оказаки отстающей цепи сшиваются, образуя непрерывную цепь.

Это требует активности двух ферментов: ДНК-полимеразы I и ДНК-лигазы.

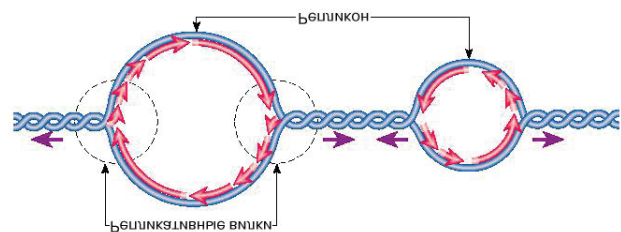


Рис. 6. Репликон.

3. **Терминация репликации** – происходит тогда, когда пробелы между фрагментами Оказаки заполняются нуклеотидами с образованием двух непрерывных двойных цепей ДНК и когда встретятся две репликативные вилки. Затем происходит закручивание синтезированных ДНК с образованием суперспиралей. После завершения репликации происходит метилирование нуклеотидных остатков вновь образованных цепей ДНК. Метилирование не нарушает комплементарности цепей и является необходимым для формирования структуры хромосом и регуляции транскрипции генов.

### Недорепликация теломер. Роль теломеразы

Теломеры – это концевые участки линейной молекулы ДНК, которые состоят из повторяющейся последовательности нуклеотидов. У человека и других позвоночных повторяющееся звено имеет формулу **TTAGGG**. В отличие от других участков ДНК теломеры не кодируют белковые молекулы, в некотором роде это "бесмысленные" участки генома.

В 1971 году ученый Алексей Матвеевич Оловников впервые предположил, что при каждом делении клеток эти концевые участки хромосом укорачиваются. То есть длина теломерных участков определяет "возраст" клетки – чем короче теломерный "хвост", тем она "старше".

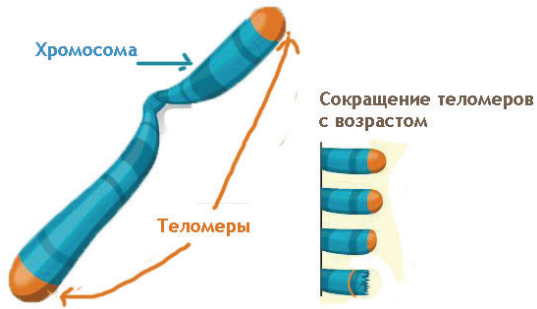


Рис. 7. Недореplikация теломер.

**Проблема отстающей цепи ДНК**

Проблема заключается в том, что синтез отстающей цепи ДНК, происходит в виде коротких фрагментов Оказаки, для инициации синтеза которых требуются РНК-затравки. После удаления затравки на конце одной из вновь синтезированных цепей образуется одноцепочечная брешь, которая не может быть заполнена ДНК-полимеразой, поскольку она не функционирует в отсутствие праймера. Вследствие этого в каждом раунде репликации должно было бы происходить укорачивание хромосом с обоих концов, что приводило бы к потере генетической информации, закодированной в концевых фрагментах ДНК. Синтез теломерных последовательностей ДНК осуществляется специальными ферментами – **теломеразой**. Особенностью этих ферментов является присутствие у них в качестве составной части короткого фрагмента РНК – компонента, необходимого для их функционирования и служащего матрицей при синтезе теломерных последовательностей хромосом. Комплементарное взаимодействие РНК теломеразы с 3'-концевым выступающим одноцепочечным сегментом ДНК хромосомы инициирует синтез теломерных последовательностей.

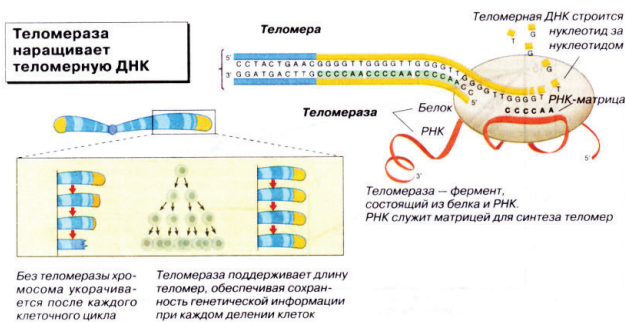


Рис. 8. Синтез недостающих теломерных фрагментов с помощью фермента теломеразы.

**Теломерная теория старения**

Чем короче теломеры, тем старше клетка, и наоборот: если активность теломеразы,

достраивающей теломеры, высока и постоянно поддерживается одинаковая длина теломеры – клетка не стареет.

По последнему «сценарию» развиваются раковые клетки, которые, как предполагают ученые, практически бессмертны; а определенные наследственные заболевания, напротив, характеризуются наличием дефектных теломераз, что приводит к быстрому старению клетки. Фермент теломеразы "работает" также в сперматозоидах и яйцеклетках. В обычных (соматических) клетках, из которых в основном и состоит организм, теломеразы "не работают", поэтому теломеры при каждом делении клетки укорачиваются, что в конечном итоге приводит к ее гибели.

Многочисленное деление клетки в случае отсутствия активности теломеразы ведет к укорочению теломер и *репликативному старению*.

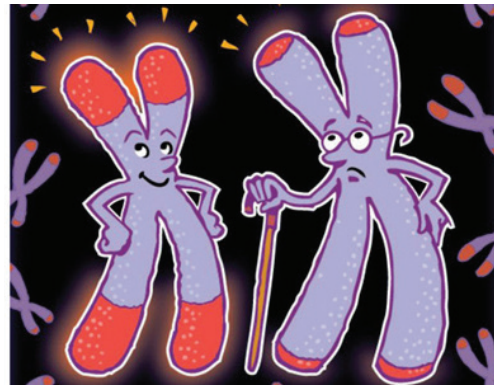
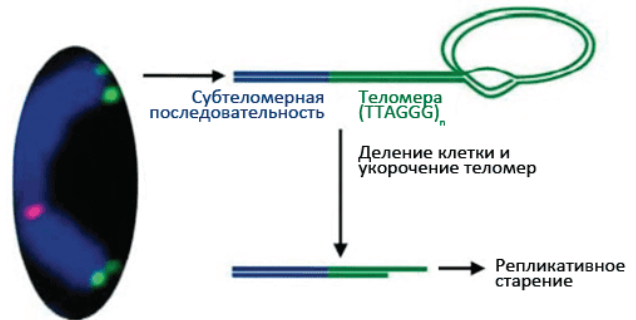


Рис. 9. Репликативное старение.

Примером врожденного заболевания, связанного с нарушением функции теломеразы, является врожденный дискератоз. Это заболевание представляет собой ретикулярную гиперпигментацию кожи, дистрофических волос и ногтей и генерализованную недостаточность костного мозга. Обычно это наблюдается в детстве, часто с признаками панцитопении. Отмечается повышенная скорость внезапного разлома хромосом, наблюдаемого в лимфоцитах периферической

крови. Врожденный дискератоз может быть унаследован как X-сцепленный рецессивный, аутосомно-доминантный или аутосомно-рецессивный признак. X-сцепленная рецессивная форма более тяжелая и более ранняя в начале, чем доминантная форма. Обе формы ассоциированы с нарушенной функцией теломер, что приводит к укороченным теломерам. Это, вероятно, приводит к преждевременной гибели клеток, а также объясняет спонтанную поломку хромосом.



Рис. 10. Изменения кожи и ногтей у человека с врожденным дискератозом.

### Функция гена

Основным принципом молекулярной генетики, часто называемой центральной догмой, является то, что ДНК кодирует РНК, которая, в свою очередь, кодирует аминокислотную последовательность белков. Теперь ясно, что это упрощенный вид функции генома. Большая часть последовательности ДНК не кодирует белок. Большая часть генома состоит из не кодирующих последовательностей, таких как повторяющаяся ДНК, или кодирует РНК, которая не транслируется в белок. Тем не менее, центральная догма остается критическим принципом функции генома.

**ДНК хранит наследственную информацию** в виде генов. Порядок нуклеотидов гена определяет порядок аминокислот в одном белке (или полипептиде, если белок состоит из нескольких полипептидных цепей). То есть ДНК кодирует белки организма. Далее белки определяют все остальное — строение, свойства, функции клеток и организма.

**На ДНК осуществляется синтез РНК**, т. е. ДНК отвечает за передачу генетической информации в цитоплазму. Синтез белка происходит в цитоплазме, с помощью РНК. А на ДНК синтезируется именно РНК. Причем трех видов: информационная, транспортная и рибосомальная. РНК синтезируется на одной из цепей ДНК также по принципу комплиментарности (как это происходит при удвоении ДНК). Далее информационная РНК определяет последовательность аминокислот в белке, транспортная РНК — доставляет аминокислоты к месту синтеза, а рибосомальная РНК входит в состав рибосом, которые являются местом синтеза белка. Синтез РНК на ДНК называется *транскрипцией*, а синтез белка на РНК

— *трансляцией*.

Экспрессия некоторых генов происходит почти повсеместно. Они называются конститутивными генами, необходимыми для репликации клетки или обмена веществ. Для других генов экспрессия тщательно контролируется, причем определенные гены включаются или выключаются в определенных клетках в определенные моменты времени в развитии или в ответ на физиологические сигналы. Геномные исследования в настоящее время применяются для анализа регуляции генов и раскрывают уникальную информацию о структуре и функции регуляторных элементов в геноме человека.

В ДНК также содержатся последовательности нуклеотидов некодирующих белок. Роль этой информации в полной мере не изучена и неизвестна.

### Трансляция

Зрелая мРНК экспортируется в цитоплазму для трансляции в белок. Во время трансляции последовательность мРНК считывается в аминокислотную последовательность белка. Трансляционный механизм состоит из комплекса белка-РНК, называемого рибосомой. Рибосомы состоят из комплекса белков и специализированной рРНК. Эукариотическая рибосома состоит из двух субъединиц, обозначенных как 60S и 40S («S» — измерение плотности, единица Сведберга, отражающая, как комплексы изначально характеризовались центрифугированием градиента плотности). Каждая субъединица включает белки и молекулы рРНК. Субъединица 60S включает 28S рРНК и 40S-субъединица — 18S рРНК.

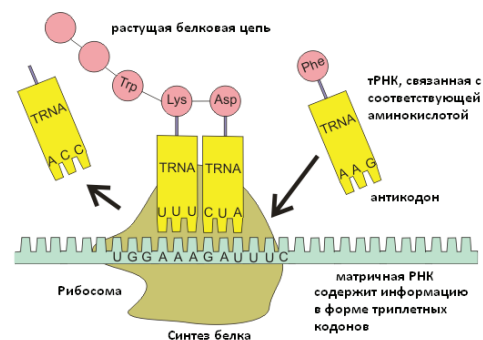


Рис. 11. Синтез белка.

Последовательность мРНК считывается в триплетях, называемых кодонами, начиная с 5'-конца мРНК, которая всегда является AUG, кодирование метионина (хотя этот метиониновый остаток иногда расщепляется). Каждый кодон соответствует определенному комплементарному антикодону, который является частью другой

молекулы РНК, тРНК. Молекулы тРНК связывают особые аминокислоты, определенные их антикодонной последовательностью (таблица 1). Поэтому трансляция белка состоит в связывании специфической тРНК с соответствующим кодоном, который сопоставляет следующую аминокислоту в растущем пептиде, который ферментативно связан амидной связью с (UAA, UGA или UAG) пептидом. Затем пептид выделяется из рибосомы для транспортировки к соответствующему сайту внутри клетки или для секреции из клетки. Сигнальная пептидная последовательность может направлять белок до конечного пункта назначения в клетке, и этот пептид отщепляется, когда достигает конечного пункта. Посттрансляционная модификация, такая как гликозилирование, начинается во время процесса трансляции и продолжается после завершения трансляции.

Таблица 1.

Генетический код

	T	C	A	G
T	TTT Phe (F) TTC " TTA Leu (L) TTG "	TCT Ser (S) TCC " TCA " TCG "	TAT Tyr (Y) TAC " TAA Ter TAG Ter	TGT Cys (C) TGC " TGA Ter TGG Trp (W)
C	CTT Leu (L) CTC " CTA " CTG "	CCT Pro (P) CCC " CCA " CCG "	CAT His (H) CAC " CAA Gln (Q) CAG "	CGT Arg (R) CGC " CGA " CGG "
A	ATT Ile (I) ATC " ATA " ATG Met (M)	ACT Thr (T) ACC " ACA " ACG "	AAT Asn (N) AAC " AAA Lys (K) AAG "	AGT Ser (S) AGC " AGA Arg (R) AGG "
G	GTT Val (V) GTC " GTA " GTG "	GCT Ala (A) GCC " GCA " GCG "	GAT Asp (D) GAC " GAA Glu (E) GAG "	GGT Gly (G) GGC " GGA " GGG "

Эпигенетика

Отдельные гены могут быть обратимо активированы или репрессированы, но есть ситуации, когда гены или наборы генов постоянно подавлены. Это происходит в результате химических модификаций ДНК, которые не изменяют последовательность оснований, а также связаны с химическими изменениями связанных с ним белков, которые приводят к уплотнению хроматина. Подавление генов характерно для одной из двух копий X-хромосомы у женского пола и по материнской или отцовской копии импринтированных генов. Это также может происходить и на других генах в определенных тканях и может подвергаться воздействию окружающей среды.

На уровне ДНК, подавление гена сопровождается метилированием оснований цитозина до 5-метилцитозина. Это происходит в областях, где цитозин следует за гуанином (5'-CpG-3') вблизи промотора, сайтах, называемых островками CpG. Метилированные сайты связывают белковые комплексы, которые удаляют ацетильные группы из гистонов, что приводит

к подавлению транскрипции. Сайленсинг продолжается производством клеток для поколения, потому что ферменты, ответственные за метилирование, распознают 5-метилцитозин на родительской цепи ДНК и метилируют цитозин на вновь синтезированную дочернюю цепь.

Инактивация X-хромосом обеспечивает механизм выравнивания доз гена на X-хромосоме у мужского пола, у которых есть одна X и женского пола, у которых есть две. Большинство генов на одной из двух X-хромосом в каждой клетке женщины постоянно инактивируются на ранней стадии развития (рис. 12). Определённая X, инактивированная в любой клетке, определяется случайным образом, поэтому примерно в 50% клеток одна X инактивирована, а в других 50% другая X инактивирована. Области гомологии между X и Y на обоих концах X избегают инактивации. Они называются псевдоаутосомальными областями. Неактивная X остаётся конденсированной в течение большей части клеточного цикла и может быть визуализирована как хорошо окрашенное тело во время интерфазы, называемое тельцем Барра.

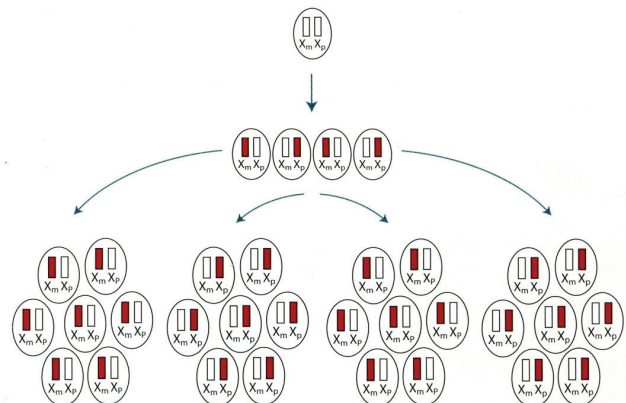


Рис. 12. Инактивация хромосомы X. В зиготе, обе матерински и отцовски полученные хромосомы X ( $X_m$  и  $X_p$ ) являются активными. В более раннем развитии одна из двух хромосом X в каждой клетке инактивируется (указана как красная хромосома). Эта X хромосома остаётся неактивной во всех продуктах этих клеток.

Начало инактивации контролируется из области, называемой центром инактивации X (циX). Ген в этой области, известный как Xist, выражается на одной из двух X-хромосом, на ранней стадии развития. Xist кодирует 25 кб РНК, которая не транслируется в белок, а связывается с сайтами на X, которая инактивируются. Впоследствии CpG-островки на этой хромосоме метилированы, а гистоны деацетилированы.

Геномный импринтинг включает в себя сайленсинг либо материнской, либо отцовской копии гена во время раннего развития (рис. 13).

Подобно инактивации X-хромосомы, импринтинг, вероятно, достигается путем метилирования специфических областей хромосом. «Отпечаток» метилирования стирают в зародышевых клетках, поэтому конкретная копия гена, подлежащая инактивации, всегда определяется родителем, от которого она наследуется, независимо от того, была ли эта конкретная копия гена активна или неактивна в предыдущем поколении. Геномный импринтинг относится только к подмножеству генов, хотя полная степень импринтинга пока не известна.

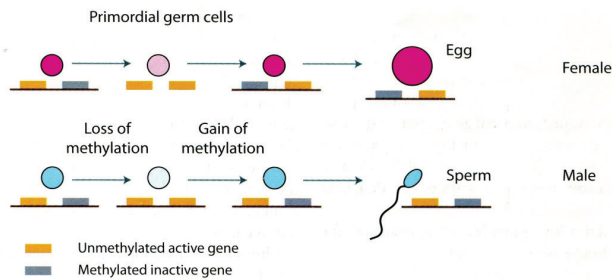


Рис.13. Концепция геномного импринтинга. Импринтированный ген будет метилирован и инактивирован в соматических клетках. На этом примере, показана пара смежных генов, один метилируется если наследуется по матерински (ген слева) и другой метилированный если по отцовски наследуется (правый ген). На этом рисунке, первичные половые клетки (после мейоза) унаследовали отцовскую аллель, следовательно ген слева неметилирован и справа метилирован.

Помимо роли в инактивации X-хромосомы, эпигенетические изменения, по-видимому, участвуют в замораживании генов в качестве компонента нормального развития или физиологических реакций на окружающую среду. Имеются данные о том, что эмбриональное питание внутриутробно может влиять на более поздний риск диабета типа 2 из-за эпигенетических маркеров, установленных во время развития плода, или что реакция индивидуума на стресс может быть опосредована эпигенетическими признаками, которые возникают во время младенчества в ответ на воспитание. Вклад эпигенетики в здоровье и болезни является новой важной областью исследований по подверженности к распространенным заболеваниям.

## Выводы

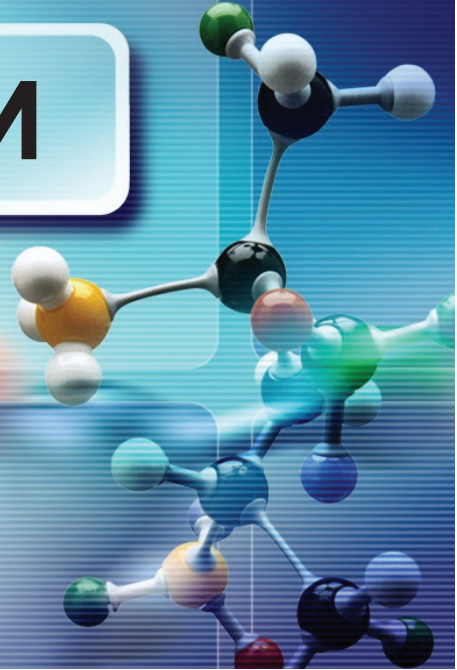
Более полувека исследований в области молекулярной биологии привели к детальному представлению о механизмах генной структуры и функции. В настоящее время генетические исследования переходят на новый уровень интеграции основных молекулярных механизмов. Однако важно понять, что некоторые фундаментальные процессы, такие как роль малых РНК и геномный импринтинг, были обнаружены только в последние десятилетия или около того. Даже когда увеличиваются достижения по поводу более масштабной интеграции, остается еще много неизученного в области фундаментальных молекулярных механизмов на уровне гена.

## ЛИТЕРАТУРА:

1. Bruce R. Korf, Mira B. Irons Human genetics and genomics – 4th ed. – John Wiley and Sons, Ltd, 2014. – 269p.
2. Фогель Ф., Мотульски А. Генетика человека: в 3 т.: перю с англ. – М.: Мир, 1990. – 378с.
3. Бочков Н.П. Клиническая генетика: Учебник. – 2-е изд. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 448 с.
4. Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Чернышов В.Н. Медицинская цитогенетика (учебное пособие). – М.: ИД МЕДПРАКТИКА-М, 2006. – 300с.
5. Тейлор Д., Грин Н., Стаут У. Биология. – 3-е изд. – М.: 2004. – Том 3 – 451с.
6. Медицинская генетика / Под ред. Е.Я. Гречаниной, Р.В. Богатыревой, А.П. Волосовца / Киев: ВСИ «Медицина», 2010. – 550с.

# МИОПАТИИ

Олейник Д.В.



Плече-лопаточно-лицевая  
дистрофия  
ТИП ЛАНДУЗИ-ДЕЖЕРИНА

- Передается по аутосомно-доминантному типу
- Женщины болеют чаще
- Течение сравнительно благоприятное
- Начинается чаще в возрасте 20 лет

## Клиника

- Слабость и атрофия раньше проявляются в лицевых мышцах, лицо \*МИОПАТА\*
- \*КРЫЛОВИДНЫЕ ЛОПАТКИ\*
- Сухожильные рефлексы длительное время бывают сохраненными
- Интеллект не страдает

## ДИАГНОСТИКА

- Электромиография
- Исследование ферментов крови
- Биопсия мышц
- Молекулярно-генетическое исследование





- Плече-лопаточно-лицевая дистрофия является генетическим заболеванием, однако лежащий в его основе молекулярный механизм остается до конца не изученным. В настоящее время обнаружены несколько генов, мутации в которых могут приводить к возникновению заболевания. Генетическая аномалия соотносится с длинным плечом хромосомы 4 (4q35).

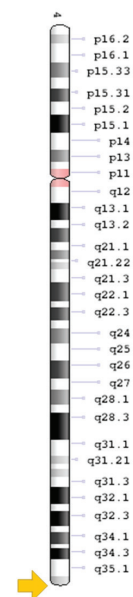


- Молекулярная диагностика основана на обнаружении делеции в пределах области дупликации D4Z4 у 4q35, при этом результаты молекулярного исследования считаются положительными при числе дупликаций менее 10/11. Однако эта делеция не была обнаружена у 5% пациентов с клиническим диагнозом «плече-лопаточно-лицевая дистрофия». Также была установлена взаимосвязь между числом дупликаций и тяжестью болезни. Существует два варианта (А и В) хромосомы 4, плече-лопаточно-лицевая дистрофия проявляется только у носителей варианта 4qA.

## FRG1

От [UniProt](#):

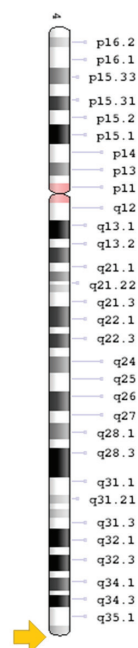
Привязывается к мРНК независимым от последовательности образом. Может играть роль в регуляции сплайсинга до мРНК или в сборке рРНК в рибосомные субъединицы. Может участвовать в транспорте мРНК. Может участвовать в эпигенетической регуляции дифференцировки мышц посредством регуляции активности N-метилтрансферазы гистон-лизина KMT5B.



- FRG1 содержит один Fascin-подобный домен, мотив, связанный с актин-связывающими свойствами ( [Edwards and Bryan, 1995](#) ), и недавно было показано, что FRG1 может связывать F-актин и способствовать его связыванию ( [Liu et al., 2010](#) ). В соответствии с этим в разных организмах эндогенный FRG1 в мышцах имеет не только ядерное распределение, но также является саркомерным белком, предполагая, что FRG1 может выполнять функцию, специфичную для мышц ( [Hanel et al., 2010](#) ; [Liu et al., 2010](#) ).
- FRG1 имеет решающее значение для правильной функции мышц и развития сосудов ( [Gabellini et al., 2006](#); [Hanel et al., 2009](#) ; [Wuebbles et al., 2009](#) ). Следовательно, *FRG1* может как минимум влиять на тяжесть заболевания.

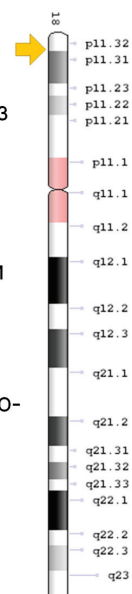
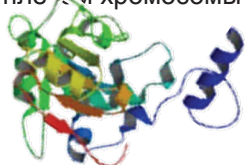
## DUX4

- DUX4 розположен в масиве повторів D4Z4 в субтеломерній області хромосоми 4q. Повтор D4Z4 являється поліморфним по довжині; аналогічний масив повторення D4Z4 був ідентифіцировано на хромосомі 10. Кожен блок повторення D4Z4 має відкриту рамку читання (називається DUX4), яка містить два гомеобокси.
- Дерепресія і дисрегуляція DUX4 (внутрі макросателітного повтору D4Z4) лежать в основі як FSHD1, так і FSHD2. Для FSHD1 дерепресія являється наслідком скорочення повторення D4Z4 і для FSHD2 це викликане патогенними варіантами в SMCHD1 .




## SMCHD1

- Білок SMCHD1 також грає роль в гіперметилуванні області поблизу кінця хромосоми 4, названою D4Z4. Ця область складається з 11 до більш ніж 100 повторюваних сегментів, кожен з яких складається з приблизно 3300 блоків ДНК (3,3 т.п.н.). Сегмент, найближчий до кінця хромосоми 4, містить ген під назвою *DUX4*. Оскільки область D4Z4 гіперметилувана, ген *DUX4* *вимикається* в більшості дорослих клітин і тканин. Мало що відомо про функцію білка, отриманого з гена *DUX4*; він допомагає контролювати активність інших генів.
- Білок SMCHD1, по-видимому, грає певну роль в нормальному розвитку носа, очей і інших структур голови і обличчя і, по-видимому, бере участь в відновленні пошкодженої ДНК
- Цитогенетичне положення: 18p11.32, являється коротким (p) плечем хромосоми 18 в положенні 11.32



## Мышечная дистрофия Дюшенна



- Частой встречаемостью
- Ранним началом (до 3-х лет)
- Злокачественным течением

## Клиника



- Утиная походка
- Уплотнение икроножных мышц (за счет псевдогипертрофии)
- Атрофии мышц бедра, тазового пояса, плечевого пояса, рук
- Гиперлордоз



- Крыловидные лопатки
- Гипо или арефлексия
- Мышечные и сухожильные контрактуры
- Кардиомиопатия
- Психическая отсталость

## Мышечная дистрофия Дюшенна

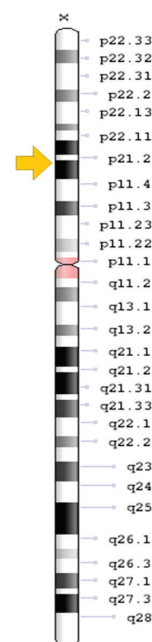
- Мышечная дистрофия Дюшенна (DMD) - это генетическое мышечное нарушение, которое поражает одного на 3500-5000 мужчин; это самый распространенный тип мышечной дистрофии в детстве.
- Это вызвано мутациями гена *DMD*, расположенного на хромосоме Хр21, которая кодирует дистрофин, белок 427 кДа, который выражается в мышечной саркомере. Отсутствие дистрофина дестабилизирует мышечную мембрану, что приводит к клиническим особенностям задержки двигательного развития, гипертрофии голени, суставным контрактурам и прогрессирующей мышечной слабости у пораженных мальчиков с заметно повышенным уровнем СК, что отражает продолжающееся повреждение мышц.

## DMD

- DMD , самый большой известный ген человека, предоставляет инструкцию для создания белка, называемого дистрофином. Этот белок расположен главным образом в мышцах, предназначенных для движения (скелетные мышцы) и в сердечной мышце. Небольшое количество дистрофина присутствует в нервных клетках головного мозга.
- В скелетных и сердечных мышцах дистрофин входит в группу белков (белковый комплекс), которые работают вместе, чтобы укрепить мышечные волокна и защитить их от травм, когда мышцы сокращаются и расслабляются. Комплекс дистрофина действует как якорь, соединяющий структурный каркас каждой клетки (цитоскелет) с решеткой белков и других молекул вне клетки (внеклеточный матрикс). Комплекс дистрофина может также играть роль в клеточной передаче сигналов, взаимодействуя с белками, которые посылают и получают химические сигналы.

## DMD

- Мало что известно о функции дистрофина в нервных клетках. Исследования показывают, что белок важен для нормальной структуры и функции синапсов, которые являются специализированными связями между нервными клетками, когда происходит связь между клетками.
- Цитогенетическое расположение: Xp21.2-p21.1, который является коротким (p) плечом X-хромосомы между позициями 21.2 и 21.1



---

---

ХАРКІСЬКА ОБЛАСНА ДЕРЖАВНА АДМІНІСТРАЦІЯ  
ХАРКІВСЬКА ОБЛАСНА РАДА  
УПРАВЛІННЯ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я  
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
КНП ХОР «МСМГЦ-ЦР(О)З»

## РЕГІОНАЛЬНА ЦІЛЬОВА ПРОГРАМА

**“Надання допомоги хворим та профілактика спадкових, рідкісних  
(орфанних) захворювань в Регіоні”  
на 2018 – 2023 рр.**

Харків -2018

КЕРІВНИКИ ПРОГРАМИ:

Ректор Харківського Національного медичного університету,  
чл.-кор. НАМНУ, д. мед. н., професор  
Лісовий В.М.

Генеральний директор КНП ХОР “МСМГЦ-ЦР (О) З”,  
директор УІКГ ХНМУ,  
чл.-кор. НАМНУ, д. мед. н., професор  
Гречаніна О.Я.

## Обґрунтування проблеми

Визначення термінів:

“Спадкові захворювання” (СЗ) – це захворювання, обумовлені порушеннями в процесах збереження, передачі та реалізації генетичної інформації.

“Рідкісні захворювання” (РЗ) – це захворювання, які зустрічаються з певною частотою, несуть на собі загрозу для життя або хронізацію прогресуючого захворювання. Без лікування РЗ призводять до смерті або до інвалідизації хворого. Ці захворювання мають поширеність серед населення 1:2000 (за даними Великої Британії, інших країн ЄС та України). Задля лікування РЗ у світі розробляються ліки.

«Орфанні ліки» (або сирітські препарати) – це такі лікувальні засоби (фармацевтичні, біологічні препарати, лікувальне харчування), які рідко використовуються та призначені для лікування та профілактики рідкісного захворювання.

Статистика показує, що з 1000 новонароджених у 35-40 виявляються різні типи спадкових хвороб, а у смертності дітей у віці до 5 років хромосомні хвороби становлять 2-3%, генні - 8-10%, мультифакторні - 35-40%. Щорічно в нашій країні народжується 180 тис. дітей з спадковими захворюваннями. Більше половини з них мають вроджені вади, близько 35 тис. - хромосомні хвороби і понад 35 тис. - генні хвороби. Слід зазначити, що число спадкових хвороб у людини з кожним роком зростає, відзначаються нові форми спадкової патології. У 1956 р. було відомо 700 форм спадкових захворювань, а до 1986 року число їх збільшилося до 2000. У 1992 кількість відомих спадкових хвороб і ознак зросла до 5710, в 2017 – 8000.

За даними EURORDIS (Європейського альянсу організацій хворих рідкісними захворюваннями) дві третини рідкісних захворювань манифестують у ранньому дитячому віці, в 65% випадків мають важкий інвалідизуючий плин, в 50% - погіршений прогноз для життя, в 35% випадках є причиною смерті протягом 1-го року життя, в 10% – у віці 1-5 років, в 12% – у віці 5-15 років.

Встановлено, що рідкісні (орфанні) захворювання у 80% обумовлені генетичними причинами. Інші рідкісні (орфанні) захворювання є результатом інфекційних уражень, алергії і дії чинників зовнішнього середовища. Ця група захворювань має важкий, хронічний, прогресуючий перебіг, супроводжується формуванням дегенеративних змін в організмі.

Значна кількість РЗ (хвороби накопичення, в тому числі, мукополісахаридози, нейродегенеративних захворювань, хвороба Гоше, хвороба Помпе; мітохондріальні хвороби, епігенетичні хвороби, онкогенетичні синдроми; нервово-м'язові хвороби (спінальна м'язова атрофія, м'язова дистрофія); муковісцидоз; фенілкетонурія (по-

рушення білкового обміну речовин); органічні ацидурії; мітохондріальні хвороби, порушення окислення жирних кислот), що раніше вважалися некурабельними, мають сьогодні можливість патогенетичного (Помпе, МПС, Гоше, ФКУ, АГС, Муковісцидоз) або симптоматичного лікування. Навіть ті форми, які раніше вважалися сублетальними і летальними, при ранньому виявленні можуть піддаватися корекції з повною або частковою реабілітацією хворих. Це дозволяє повернути в суспільство фізично і соціально адаптованих, працездатних людей. Орфанні препарати, що використовуються для лікування РЗ, як правило, є високо вартісними, тому величезного значення в менеджменті цих захворювань набуває своєчасна нозологічна діагностика, проведена згідно принципів доказової медицини.

Спадкові хвороби представляють собою широкий спектр захворювань, які варіюють у манифестації і менеджменті в залежності від ступеня ураження органів і систем. Але вони мають спільні особливості менеджменту:

- СЗ потребують широкого набору спеціальних біохімічних, цитогенетичних, молекулярних тестів, електро-фізіологічних, ультразвукових та комп'ютерних методів діагностики та клінічного моніторингу;

- пацієнти потребують допомоги спеціалізованої мультидисциплінарної команди спеціалістів (генетика, невролога, педіатра, дієтолога, психолога, реабілітолога та інших), які мають досвід в діагностиці, менеджменті і прогнозі СЗ;

- необхідна тісна координація фахівців з СЗ з багатьма клінічними спеціальностями;

- часто РЗ є спадковими захворюваннями, тому сім'ї хворих потребують медико-генетичного консультування;

- пацієнти, як правило, мають хронічні полісистемні ураження, тому вони та члени родини потребують підтримки широкого спектру реабілітаційних та інших допоміжних служб та волонтерських організацій.

Спадкові захворювання, в тому числі РЗ, характеризуються раннім початком, прогресуючим перебігом і високою частотою летальності в дитячому віці. Лікування СЗ і профілактика їх важких ускладнень є однією з найважливіших проблем клінічної генетики і педіатрії. Основна роль в корекції спадкових метаболічних порушень відводиться замісній ферментній терапії, патогенетичним засобам корекції, дієтотерапії. Своєчасно розпочате лікування дозволяє запобігти важкому ураженню центральної нервової системи та інших органів і соціально адаптувати хворого.

Харківський міжобласний спеціалізований медико-генетичний Центр -центр рідкісних (орфанних) захворювань вивчає як надавати допо-



могу хворим із СЗ вже 52 років. За цей час була створена унікальна система безперервного позитивного спостереження за сім'ями із СЗ, у тому числі РЗ, відпрацьована система трансформацій медико-генетичної допомоги від дитячого до дорослого віку, що дало можливість багатьом хворим із СЗ, у тому числі РЗ, народити здорових дітей. Впровадження неонатального скринінгу на ФКУ, гіпотеріоз, АТС, поліморфізми, муковісцидоз дало можливість попередити розумову відсталість у багатьох сотень дітей із різними СЗ. Проте, не зважаючи на багаточисельні надбання такої допомоги в Регіоні завдяки поєднанню зусиль генетиків, органів Влади, Департаменту охорони здоров'я та лікарів, існує життєво необхідне подолання перелічених проблем.

До загальних медичних та соціальних проблем рідкісних (орфанних) захворювань відносяться:

1) відсутність в теперішній час в Україні повної статистичної інформації про рідкісні захворювання, не розроблені механізми складання регіонального реєстру СЗ, в тому числі РЗ, який об'єднав би існуючі реєстри;

2) відсутність доступних методів ранньої діагностики РЗ в більшості спеціалізованих медичних закладів регіону;

3) недостатня обізнаність адекватною науковою інформацією лікарів загальної мережі та населення;

4) важкодоступність отримання якісного тривалого лікування хворих;

5) важкі соціальні наслідки захворювань для суспільства та сімей;

6) відсутність достатньої кількості кваліфікованих спеціалістів, які змогли б забезпечити якісну діагностику рідкісних захворювань, а особливо спеціалістів реанімаційної служби, обізнаність в особливостях коматозних та інших ургентних станів метаболічної природи у дітей і дорослих.

Важливим питанням є забезпечення лікування спадкових захворювань, в тому числі рідкісних, взаємодія з іншими медичними службами, медико-генетична допомога сім'ї, деонтологічні аспекти роботи, довгострокове спостереження за виявленими пацієнтами.

Назріла необхідність концентрації зусиль регіону, спеціалістів і асоціацій сімей у створенні Регіональної цільової програми "Надання допомоги хворим та профілактика спадкових захворювань, рідкісних (орфанних) в Регіоні" на 2018 – 2023 рр.

### Мета програми

Вдосконалення системи ранньої діагностики та профілактики СЗ, у тому числі РЗ, для створення оптимальних індивідуальних умов для виношування вагітності та якісної пренатальної діагностики, адекватної терапії (хвороби накопи-

чення, в тому числі, мукополісахаридози, хвороба Гоше, хвороба Помпе; нервово-м'язові хвороби (спінальна м'язова атрофія, м'язова дистрофія); муковісцидоз; фенілкетонурія; органічні ацидурії; мітохондріальні хвороби, порушення окислення жирних кислот), забезпечення якісного диспансерного спостереження, сучасного комплексного лікування і реабілітації хворих та проведення пренатальної діагностики, що приведе до зниження рівня смертності, уповільнення прогресування захворювань, подовження тривалості та покращення якості життя хворих.

### Основні завдання

1. Створення загального Регіонального реєстру СЗ, у тому числі РЗ, шляхом уточнення та об'єднання існуючих реєстрів.
2. Проведення медико-генетичними центрами тренінгів сімейним лікарям з проблем рідкісних хвороб лікарями-генетиками МСМГЦ-ЦР(О)З.
3. Підготовка для сімейних лікарів довідкової інформації про СЗ, у тому числі РЗ.
4. Розробка та впровадження стандартів діагностики, лікування і профілактики рідкісних захворювань і локальних протоколів.
5. Забезпечення МСМГЦ-ЦР(О)З необхідним обладнанням задля створення можливості сучасного рівня діагностики СЗ, у тому числі РЗ.
6. Забезпечення хворих життєво необхідними препаратами (в тому числі лікарськими засобами для специфічної етіопатогенетичної корекції), лікувальними сумішами та продуктами харчування для своєчасного і позитивного лікування хворих з СЗ, з урахуванням норм та вікових потреб пацієнтів.
7. Вдосконалення реабілітаційних заходів для хворих РЗ шляхом створення на базі МСМГЦ-ЦР(О)З генетичної клініки уточнюючої діагностики та реабілітації.
8. Впровадження заходів соціальної адаптації хворих на СЗ, у тому числі РЗ, (забезпечення допомоги соціальних працівників хворим для їх рівного доступу до якісної освіти, інтегрованого навчання та інших сфер соціального життя).
9. Вдосконалення системи трьохрівневої профілактики – прекоцепційної (первинної), медичної (вторинної) та попередження ускладнень СЗ, у тому числі РЗ, за рахунок неонатального скринінгу, адекватної реабілітації (третинна профілактика), медико-генетичного консультування і пренатальної діагностики з метою попередження народження дітей з СЗ, у тому числі РЗ.
10. Забезпечення необхідними лікувальними засобами та дієтичними сумішами дорослих пацієнтів, зокрема вагітних жінок, при пла-

- нуванні та впродовж усієї вагітності, з метою попередження вроджених вад розвитку у новонароджених.
11. Урегулювання системи тендерних закупок лікувальних сумішей та препаратів задля своєчасного і індивідуального безперервного лікування.
  12. Проведення наукових досліджень по вивченню ефективності заходів попередження і раннього виявлення СЗ, у тому числі РЗ.
  13. Здійснення заходів з розповсюдження знань серед населення щодо причин виникнення, клінічних проявів та шляхів попередження СЗ, у тому числі РЗ.
  14. Вдосконалення системи обміну досвідом між фахівцями, що займаються проблемами СЗ, у тому числі РЗ, і пацієнтськими організаціями в Регіоні з країнами ЄС та іншими державами.
  15. Створення експертної ради при Департаменті охорони здоров'я МСМГЦ-ЦР(О)З до складу якої входять лікарі-генетики, лікарі спеціалісти, біохіміки, молекулярні генетики, фармакогенетики і батьківські асоціації для надання кваліфікованої допомоги при різних РЗ.
  16. Організація просвітницьких центрів по ранньому виявленню та лікуванню СЗ, у тому числі РЗ, на базі МСМГЦ-ЦР(О)З для батьків хворих на СЗ, у тому числі РЗ, та широких верств населення у форматі онлайн-курсу.
  17. Створення програмного забезпечення для сайту з метою первинного консультування майбутніх молодят та виявлення ризику генетичної патології у плода.
  18. Вибір групи високого генетичного ризику через первинне генетичне консультування майбутніх молодят.
  19. Створення та поширення соціальної реклами в мережі Інтернет.
  20. Запровадити єдину систему прекоцепційної профілактики з використанням фолієвої кислоти з урахуванням випадків резистентності до неї. Розробити та довести до виконавців методичні рекомендації.

#### **Шляхи вирішення проблем рідкісних (орфанних) захворювань в Регіоні:**

1. Створити на базі МСМГЦ-ЦР(О)З при Обласному Департаменті охорони здоров'я Експертну Раду по СЗ, до складу якої включити лікарів-генетиків та лікарів-спеціалістів, науковців, економістів, представників батьківських асоціацій, представників бізнесу для розробки оптимальних рішень проблем СЗ, у тому числі РЗ.

2. Розробити Регіональні нормативні документи (Наказ про медико-генетичну службу Регіону) та адаптувати чинне законодавство України до потреб хворих з СЗ (хвороби накопичення, в тому числі, мукополісахаридози, хвороба Гоше, хвороба Помпе; нервово-м'язові хвороби (спінальна

м'язова атрофія, м'язова дистрофія); муковісцидоз; фенілкетонурія; органічні ацидурії; мітохондріальні хвороби, епігенетичні хвороби, онкогенетичні синдроми; порушення окислення жирних кислот).

3. Визначити статус хворих зі спадковими, в тому числі рідкісними (орфанними) захворюваннями шляхом вдосконалення правової бази:

- розвиток міжгалузевої, міжрегіональної і міжнародної співпраці в галузі діагностики, лікування і профілактики спадкових, в тому числі рідкісних (орфанних) захворювань;

- створення Регіонального Альянсу із СЗ на базі Харківського міжобласного спеціалізованого медико-генетичного центру-центру рідкісних (орфанних) захворювань.

4. Впровадити ефективні методи ранньої діагностики спадкових, в тому числі рідкісних (орфанних) захворювань:

- розробити та впровадити сучасні стандарти індивідуальної діагностики;

- запровадити в клінічних установах ранню діагностику рідкісних (орфанних) захворювань.

5. Доручити кафедри медичної генетики та Українському інституту клінічної генетики ХНМУ виконувати роль наукового координатора Регіональної цільової програми, та вивчити роль епігенетичних факторів (інфекція, характер харчування, стрес, паління, травми) в маніфестації та ускладненні рідкісних хвороб.

6. Впровадити ефективні методи лікування і реабілітації хворих з СЗ, у тому числі РЗ, для зниження рівня смертності і інвалідності:

- створити і затвердити діагностичні та лікувальні алгоритми задля забезпечення індивідуальної терапії та реабілітації хворих на СЗ, у тому числі РЗ;

- розширити список затверджених життєво необхідних лікарських препаратів (в тому числі лікарських засобів для специфічної етіопатогенетичної корекції), лікувальних сумішей та продуктів харчування для своєчасного і довгострокового лікування хворих з СЗ, у тому числі РЗ;

- прискорити і спростити процеси реєстрації переліку лікарських засобів для специфічної патогенетичної корекції, лікувальних сумішей та продуктів харчування для своєчасного і довгострокового(пожиттєвого) лікування хворих та перегляду цього списку щоквартально.

7. Відкрити Регіональну гарячу лінію та поширити телемедичні консультації Українського інституту клінічної генетики ХНМУ на базі МСМГЦ-ЦР(О)З, кафедри медичної генетики ХНМУ з метою надання інформаційної підтримки сім'ям зі спадковими, в тому числі рідкісними (орфанними) захворюваннями.

**Враховуючи високу соціальну значущість проблеми СЗ, необхідність залучення багатьох установ та вибудови нової інноваційної полі-**

**conferenceseries.com**

47 Churchfield Road, London, W3 6AY, UK

*Special Recognition  
to*

***Olena Grechanina***

*in appreciation of her esteemed support as*

*Organizing Committee Member for*

*5<sup>th</sup> International Conference on*

*Gynecology and Obstetrics*

*October 08-10, 2018 in Zurich, Switzerland*

# Certificate of Recognition

**conference**series.com

47 Churchfield Road, London, W3 6AY, UK

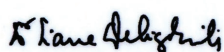
Conference Series and the Editors of *Gynecology & Obstetrics, Journal of Women's Health Care and Andrology & Gynecology: Current Research* wish to thank

**Prof/Dr. Olena Grechanina**

*Kharkiv Interregional Specialized Medical Genetic Center-Center of Rare (Orphan) Diseases, Ukraine*

for her phenomenal and worthy oral presentation on  
“*The experience of preconceptional care and pre and postnatal specifying diagnosis as a consistent system of inborn inherited pathology prevention*”

at the “*5<sup>th</sup> International Conference on Gynecology and Obstetrics*”  
held during October 08-10, 2018 in Zurich, Switzerland



**Liane Deligdisch**

Icahn School of Medicine at Mount Sinai  
USA



**Wassil Nowicky**

Nowicky Pharma/Ukrainian Anti-Cancer Institute  
Austria

## Gynecology 2018 Organizing Committee Members

**Wassil Nowicky**

Nowicky Pharma/Ukrainian  
Anti-Cancer Institute, Austria

**Liane Deligdisch**

Icahn School of Medicine at  
Mount Sinai, USA

**Michael J Sinosich**

Douglass Hanly Moir Pathology  
Australia

**Song-Nan Chow**

National Taiwan University  
Hospital, Taiwan

## **тики, доповіді про стан проблеми СЗ, у тому числі РЗ, в Регіоні на сесії Обласної Ради.**

Одним із пріоритетів регіональної Програми повинне бути «забезпечення справедливого доступу до діагностики, лікування та надання медичної допомоги» всім людям, у тому числі й тим, які страждають на СЗ, у тому числі РЗ. У якості основних стратегічних напрямків для досягнення цієї мети ми пропонуємо наступне:

1. Поглиблення знань про епідеміологію спадкових, в тому числі рідкісних захворювань.
2. Покращення розпізнавання особливостей рідкісних захворювань.
3. Законодавче забезпечення оптимізації й розвитку збору даних зі спадкових, в тому числі рідкісних захворювань.
4. Надання своєчасного доступу до актуальної інформації для пацієнтів, фахівців в галузі охорони здоров'я і громадськості в цілому стосовно спадкових захворювань.
5. Покласти обов'язки розробки та координування системного покращеного підходу до вирішення проблем, пов'язаних із спадковими, в тому числі рідкісними захворюваннями відповідно до Регіональної стратегії профілактики рідкісних захворювань на МСМГЦ-ЦР(О)З.
6. Організація навчання фахівців системи охорони здоров'я для поліпшення діагностики рідкісних захворювань.
7. Організація скринінгу СЗ, у тому числі РЗ, удосконалення діагностики й забезпечення їх доступності.
8. Спрощення доступу пацієнтів до лікування і якісного надання медичної допомоги.
9. Стимулювання інноваційних досліджень з рідкісних захворювань, особливо в сфері лікування на Регіональному рівні. Розробка нових препаратів і методів лікування.
10. Реалізація специфічних потреб осіб, які страждають спадковими, в тому числі рідкісними захворюваннями, удосконалення системи реабілітації, соціальної інтеграції.
11. Розвиток системи громадського контролю в системі охорони здоров'я, підтримка асоціацій пацієнтів, залучення їх до співпраці із медичними працівниками, з огляду на їхній специфічний власний досвід.
12. Розширення ролі пацієнтів зі спадковими, в тому числі рідкісними захворюваннями, в проведенні клінічного тестування нових лікарських продуктів на Регіональному та світовому рівнях з метою полегшення доступу до участі в діючих міжнародних проектах.
13. Надати МСМГЦ-ЦР(О)З необхідну інфраструктуру та повноваження координатора, що забезпечить чітку скоординовану роботу всіх складових системи охорони здоров'я в сфері спадкових, рідкісних захворювань.

14. Розвиток Регіонального й міжнародного співробітництва в галузі спадкових, рідкісних захворювань.

### **Очікувані результати виконання програми, визначення її ефективності**

1. Зниження рівня дитячої смертності.
2. Подовження тривалості та покращення якості життя хворих з СЗ, у тому числі РЗ (хвороби накопичення, в тому числі, мукополісахаридози, хвороба Гоше, хвороба Помпе; нервово-м'язові хвороби (спінальна м'язова атрофія, м'язова дистрофія); муковісцидоз; фенілкетонурія; органічні ацидурії; мітохондріальні хвороби; онкогенетичні синдроми; епігенетичні хвороби; порушення окислення жирних кислот).
3. Застосування специфічного етіопатогенетичного лікування суттєво зменшить фінансові витрати на лікування ускладнень, що формуються у хворих з СЗ, у тому числі РЗ, без застосування цих препаратів.
4. Науковий аналіз ефективності заходів попередження, раннього виявлення, етіопатогенетичного лікування та реабілітації СЗ, у тому числі РЗ.
5. Підвищення рівня освіти лікарів різних спеціальностей з питань діагностики, лікування та профілактики СЗ, у тому числі РЗ.
6. Підвищення рівня освіти батьків та членів родин хворих на РЗ з питань профілактики СЗ, у тому числі РЗ.

### **Фінансове забезпечення**

Фінансування Програми здійснюватиметься відповідно до законодавства за рахунок коштів державного, обласного і місцевих бюджетів, а також інших джерел, не заборонених законодавством та за рахунок субвенцій інших регіонів.

### **Матеріально-технічне забезпечення Програми**

1. Сучасне оснащення ХМСМГЦ-ЦР(О)З, який зможе забезпечити уточнюючу діагностику спадкових захворювань, в тому числі рідкісних (орфанних) захворювань в Регіоні.
2. Відкрити і оснастити необхідним обладнанням генетичну клініку уточнюючої діагностики та реабілітації.
3. Забезпечити хворих СЗ, у тому числі РЗ, обладнанням, необхідним для їх соціальної адаптації (засоби для пересування, засоби гігієни, засоби телекомунікації та інші).

### **Моніторинг та наукова оцінка Програми**

1. Забезпечити постійний моніторинг виконання Програми "Надання допомоги хворим на рідкісні (орфанні) захворювання в Регіоні" на 2015 – 2020 роки.
2. З метою вивчення ефективності Програми здійснити наукові дослідження щодо вивчення

ролі епігенетичних факторів у перебігу рідкісних хвороб та наслідків запровадження цієї Програми.  
3. Вивчати епідеміологію РЗ на підставі генетичного моніторингу на протязі 5 років.

**Програма “Надання допомоги хворим та профілактики спадкових захворювань, рідкісних (орфанних) в Регіоні” на 2018 – 2023 рр. залишається відкритою для включення**

**в неї інших груп рідкісних захворювань. Зміст програми знаходиться у відповідності до європейського проекту з рідкісних захворювань «Розвиток Державних Планів з Рідкісних Хвороб» (EUROPLAN [www.europlanproject.eu](http://www.europlanproject.eu)), де визначаються головні цілі ЄС в сфері рідкісних захворювань.**  
Програма розроблена колективом авторів:

Гречаніна О.Я.	_____	Директор Українського інституту клінічної генетики ХНМУ, професор кафедри медичної генетики ХНМУ, генеральний директор КНП ХОР МСМГЦ-ЦР(О)З, чл.-кор. НАМН України, д.мед.н., професор.
Гречаніна Ю.Б.	_____	Український інститут клінічної генетики ХНМУ, завідувач кафедри медичної генетики ХНМУ, д.мед.н., професор.
Молодан Л.В.	_____	Український інститут клінічної генетики ХНМУ, доцент кафедри медичної генетики ХНМУ, к.мед.н.
Здібська О.П.	_____	доцент кафедри медичної генетики ХНМУ, к.мед.н.
Бугайова О.В.	_____	доцент кафедри медичної генетики ХНМУ, к.мед.н.
Сазонова Т. М.	_____	студентка медичного факультету ХНУ імені В.Н. Каразіна
Дегтяр К. О.	_____	студент І медичного факультету ХНМУ
Нечипорук І. А.	_____	студентка І медичного факультету ХНМУ

#### **Виконавці:**

КНП ХОР МСМГЦ-ЦР(О)З:

Красов О.В.  
Забеліна А.А.  
Хміль О.Б.  
Олійник О.В.  
Канюка М.В.  
Байрамов Агіл  
Грузкова М.Б.  
Вернігор О.Ю.  
Майборода Т.А.

Управління охорони здоров'я ХОДА:

Головний спеціаліст акушер-гінеколог  
Гапонова Л.О.  
Головний спеціаліст педіатр  
Ковальова С.В.  
Головний спеціаліст невролог  
Скрипченко І.Р.  
Головний спеціаліст терапевт  
Денисенко В.П.

ХНУ ім.В.Н. Каразіна:

Сазонова Т.М.

ХНМУ:

Дегтяр Т.М.  
Нечипорук І.А.

---

---

## ЗМІСТ

### **Ю.Б. Гречаніна**

Вивчення впливу поліморфізмів мтДНК та варіантів поліморфного гена C677T MTHFR та A66G MTRR на клінічні прояви мітохондріальної дисфункції..... 3

### МОНОГЕННІ ХВОРОБИ

#### **О.Я. Гречаніна, Ю.Б. Гречаніна, І.А. Волобуєва, О.Ю. Вернігор**

Краніометафізарна дисплазія (ANKH-Gen с.1124-1126del відповідно до NCBI NM\_054027.4, ATG=+1) (p.Ser375del, Htzg) на фоні легкої гомоцистинурії (MTHFR 677 TT), поліморфізмів MTR 2756 GG, MTRR 66AG, PAI -675 (5G/4G), AGT II 235 TT. Епігенетична хвороба? ..... 23

### ХРОМОСОМНІ ХВОРОБИ

#### **Т.В. Нікітчина, І.Ю. Гордієнко, О.М. Тарапурова, О.О. Ващенко**

Поліморфізми та інверсії хромосом в пренатальній діагностиці патології плода..... 34

#### **Н.С. Дворніченко, Т.М. Ткачова, Н.М. Квітчатта, І.Б. Іванова, О.Б. Хміль**

Сімейний випадок сбалансованої транслокації у дитини з затримкою психомовного розвитку. .... 39

### МУЛЬТИФАКТОРІАЛЬНІ ЗАХВОРЮВАННЯ

#### **О.Я. Гречаніна, О.П. Здибська, Л.В. Молодан, Ю.Б. Гречаніна, М.В. Канюка, Г.С. Сенаторова**

Ефективність уточнюючої діагностики спадкових хвороб обміну з використанням газової хроматографії / мас-спектрометрії на прикладі синдрому ННН ..... 43

#### **Ю.Б. Гречаніна, А.А. Майстренко, С.В. Лісняк**

Клінічний поліморфізм орфанного захворювання – хвороба Канавана.  
Шляхи ефективної реабілітації..... 53

#### **О.Я. Гречаніна, О.В. Бугайова**

Раритетні конгломерати хвороб серед порушень обміну глікозаміногліканів. .... 57

#### **Г.О. Яновська**

Порушення метаболізму амінокислот при перинатальних енцефалопатіях, що викликані гіпоксичним ушкодженням. .... 62

#### **В.В. Бойко, О.М. Климова, Д.А. Євтушенко, Т.І. Кордон, С.В. Сушков**

Взаємозв'язок геномних і епігеномних предикторів з ризиком розвитку і ступенем вираженості спайкової хвороби ..... 71

### РІДКІСНІ СПАДКОВІ ХВОРОБИ. КЛІНІЧНІ СПОСТЕРЕЖЕННЯ

#### **С.В. Лісняк, Ю.Б. Гречаніна, Л.В. Молодан**

Клінічний випадок поєднання рідкісного порушення обміну ліпідів (дефіцит β-ліпопротеїнілази), гіпергомоцистеїнемії і мітохондріальної дисфункції. .... 82

#### **О.Б. Хміль**

Клінічний випадок. Синдром Сімпсона-Голабі-Бемеля. Гіпергомоцистеїнемія.  
Хронічне носійство токсоплазмової і цитомегаловірусної інфекції..... 85

#### **Ю.Б. Гречаніна, Л.В. Молодан, Ю.Н. Гринченко**

Клінічний випадок поєднання нейрофіброматозу II типу, дефіциту метіленететрагідрофолатредуктази, метіонінсинтазаредуктази, метіонінсинтази з гіпергомоцистеїнемією та сполучнотканинною дисплазією. .... 87

#### **О.П. Здибська, Ю.Б. Гречаніна, О.Б. Хміль**

Випадок поєднання глутарової ацидемії 2 типу і гіпергомоцистеїнемії. .... 89

#### **Ю.Б. Гречаніна, Л.С. Литвінова**

Клінічний випадок періодичної хвороби абдомінальної форми. .... 92

---

---

## ЛЕКЦІЇ

<i>Ю.Б. Гречанина</i> Мітохондріальні хвороби.....	94
<i>С.В. Лісняк</i> Порушення обміну вітаміну D як метаболічна проблема.....	111
<i>І.Б. Іванова</i> Структура і функція ДНК. ....	127

## МОЛОДІЖНА НАУКА. ПРЕЗЕНТАЦІЇ

<i>Д.В. Олейник</i> Міопатії. ....	135
------------------------------------	-----

## РЕГІОНАЛЬНА ЦІЛЬОВА ПРОГРАМА

«Надання допомоги хворим та профілактика спадкових, рідкісних (орфанних) захворювань в Регіоні» на 2018 – 2023 р.р. ....	143
--	-----

---

---

## СОДЕРЖАНИЕ

*Ю.Б. Гречанина* Изучение влияния полиморфизмов мтДНК и вариантов полиморфного гена C677T MTHFR и A66G MTRR на клинические проявления митохондриальной дисфункции...3

### МОНОГЕННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

*Е.Я. Гречанина, Ю.Б. Гречанина, И.А. Волобуева, О.Ю. Вернигор*

Краниометафизарная дисплазия (ANKH-Gen c.1124-1126del в соответствии с NCBI NM\_054027.4, ATG=+1) (p.Ser375del, Htzg) на фоне легкой гомоцистинурии (MTHFR 677 TT), полиморфизмов MTR 2756 GG, MTRR 66AG, PAI – 675 (5G/4G), AGT II 235 TT. Эпигенетическая болезнь? .....23

### ХРОМОСОМНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

*Т.В. Никитчина, И.Ю. Гордиенко, О.М. Тарাপурова, О.О. Ващенко*

Полиморфизмы и инверсии хромосом в пренатальной диагностике патологии плода...34  
*Н.С. Дворниченко, Т.М. Ткачева, Н.Н. Квитчатая, И.Б. Иванова, О.Б. Хмиль* Семейный случай сбалансированной транслокации у ребенка с задержкой психоречевого развития. ....39

### МУЛЬТИФАКТОРИАЛЬНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

*Е.Я. Гречанина, Е.П. Здыбская, Л.В. Молодан, Ю.Б. Гречанина, М.В. Каныюка, А.С. Сенаторова* Эффективность уточняющей диагностики наследственных болезней обмена с использованием газовой хроматографии / масс-спектрометрии на примере синдрома ННН .....43

*Ю.Б. Гречанина, А.А. Майстренко, С.В. Лесняк* Клинический полиморфизм орфанного заболевания – болезнь Канавана. Пути эффективной реабилитации. ....53

## CONTENT

*Grechanina Yu.B.* Studying influence of mtDNA polymorphisms and polymorphic gene variants C677T MTHFR and A66G MTRR on clinical manifestations of mitochondrial dysfunction..... 3

### MONOGENIC DISEASES

*O.Ya. Grechanina, Yu.B. Grechanina, I.A. Volobuyeva, O.Yu. Vernigor* Craniometaphyseal dysplasia (ANKH-Gen p.1124-1126del according to NCBI NM\_054027.4, ATG = + 1) (p.Ser375del, Htzg) against the background of mild homocystinuria (MTHFR 677 MGRT MGRG, MGTR 677 TT), MTR 2756 GG, MTRR 66AG, PAI-675 (5G / 4G), AGT II 235 TT. Epigenetic disease? ..... 23

### CHROMOSOMAL DISEASES

*T.V. Nikitchyna, I.Yu. Gordienko, O.M. Tarapurova, O.O. Vashchenko* Polymorphisms and inversions of chromosomes in prenatal diagnosis of fetal pathology..... 34  
*N.S. Dvornichenko, T.M. Tkacheva, N.M. Kvitchata, I.B. Ivanova, O.B. Khmil* The family case of balance translocation in the child with psycho-speech development delay..... 39

### MULTIFACTORIAL DISEASES

*O.Ya. Grechanina, O.P. Zdybskaya, L.V. Molodan, Yu.B. Grechanina, M.V. Kanyuka, G.S. Senatorova* The effectiveness of clarifying diagnostics of inherited metabolic diseases using gas chromatography/mass spectrometry by an example of HHH syndrome..... 43

*Yu.B. Grechanina, A.A. Maystrenko, S.V. Lisniak* Clinical polymorphism of the orphan disease - Canavan disease. Ways of effective rehabilitation ..... 53



<b>Е.Я. Гречанина, Е.В. Бугаева</b> Раритетные конгломераты болезней среди нарушений обмена гликозаминогликанов.....	57
<b>А.А. Яновская</b> Нарушение метаболизма аминокислот при перинатальных энцефалопатиях, вызванных гипоксическим повреждением.....	62
<b>В.В. Бойко, Е.М. Климова, Д.А. Евтушенко, Т.И. Кордон, С.В. Сушков</b> Взаимосвязь геномных и эпигеномных предикторов с риском развития и степенью выраженности спаечной болезни .....	71

#### РЕДКИЕ НАСЛЕДСТВЕННЫЕ БОЛЕЗНИ. КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

<b>С.В. Лесняк, Ю.Б. Гречанина, Л.В. Молодан</b> Клинический случай сочетания редкого нарушения обмена липидов (дефицит β-липопротеинлипазы), гипергомоцистеинемии и митохондриальной дисфункции .....	82
<b>О.Б. Хмиль</b> Клинический случай. Синдром Симпсона- Голаби-Бемеля. Гипергомоцистеинемия. Хроническое носительство токсоплазменной і цитомегаловирусной инфекции.....	85
<b>Ю.Б. Гречанина, Л.В. Молодан, Ю.Н. Гринченко</b> Клинический случай сочетания нейрофиброматоза II типа, дефицита метилентетрагидрофолатредуктазы, метионин синтазаредуктазы, метионинсинтазы с гипергомоцистеинемией и соединительнотканной дисплазией.....	87
<b>Е.П. Здыбская, Ю.Б. Гречанина, О.Б. Хмиль</b> Случай сочетания глутаровой ацидемии 2 типа и гипергомоцистеинемии .....	89
<b>Ю.Б. Гречанина, Л.С. Литвинова</b> Клинический случай периодической болезни абдоминальной формы .....	92

#### ЛЕКЦИИ

<b>Ю.Б. Гречанина</b> Митохондриальные болезни .....	94
<b>С.В. Лесняк</b> Нарушение обмена витамина D как метаболическая проблема .....	111
<b>И.Б. Иванова</b> Структура и функция ДНК.....	127

#### МОЛОДЕЖНАЯ НАУКА. ПРЕЗЕНТАЦИИ

<b>Д.В. Олейник</b> Миопатии .....	135
------------------------------------	-----

<b>РЕГИОНАЛЬНАЯ ЦЕЛЕВАЯ ПРОГРАММА</b> «Оказание помощи больным и профилактика наследственных, редких (орфанных) заболеваний в Регионе» на 2018 – 2023 г.г. ....	143
--	-----

<b>О.Я. Grechanina, O.V. Bugayova</b> Rare conglomerates of diseases among disorders of glycosaminoglycan metabolism.....	57
<b>G.O. Yanovska</b> Disorders of metabolism of amino acids in perinatal encephalopathies, which are caused by hypoxic damage .....	62
<b>V.V. Boyko, O.M. Klimova, D.A. Evtushenko, T.I. Kordon, S.V. Sushkov</b> Interconnection of genomic and epigenomic predictors associated with the risk of development and the severity of adhesive peritoneal disease ..	71

#### RARE INHERITED DISEASES. CLINICAL OBSERVATIONS

<b>S.V. Lisniak, Yu.B. Grechanina, L.V. Molodan</b> The clinical case of a combination of a rare disorder of lipid metabolism (beta-lipoproteinase deficiency), hyperhomocysteinemia and mitochondrial dysfunction.....	82
<b>O.B. Khmil</b> The clinical case. Simpson-Golabi-Behmel syndrome. Hyperhomocysteinemia. Chronic carrying of toxoplasmic and cytomegalovirus infections .....	85
<b>Yu.B. Grechanina, L.V. Molodan, Yu.N. Grinchenko</b> The clinical case of neurofibromatosis type II, methylenetetrahydrofolate reductase deficiency, methionine synthase reductase deficiency, methionine synthase deficiency with hyperhomocysteinemia, and connective tissue dysplasia.....	87
<b>O.P. Zdybskaya, Yu.B. Grechanina, O.B. Khmil</b> The case of the combination of glutaric acidemia type 2 and hyperhomocysteinemia .....	89
<b>Yu.B. Grechanina, L.S. Litvinova</b> The clinical case of episodic disease of abdominal form.....	92

#### LECTURES

<b>Yu.B. Grechanina</b> Mitochondrial diseases.....	94
<b>S.V. Lisniak</b> Disorder of vitamin D metabolism as a metabolic problem .....	111
<b>I.B. Ivanova</b> The structure and function of DNA .....	127

#### YOUTH SCIENCE. PRESENTATIONS

<b>D.V. Oleynik</b> Myopathies.....	135
-------------------------------------	-----

<b>REGIONAL TARGET PROGRAM</b> «Assistance to patients and prevention of hereditary, rare (orphan) diseases in Region» in 2018 - 2023 .....	143
--	-----

---

---

**ВИМОГИ ДЛЯ ОФОРМЛЕННЯ МАТЕРІАЛІВ  
ДЛЯ ПУБЛІКАЦІЇ В МЕДИЧНОМУ  
НАУКОВО-ПРАКТИЧНОМУ ЖУРНАЛІ  
«Клінічна генетика і перинатальна діагностика»  
2018 рік**

**Розділи журналу:**

1. Моногенні хвороби.
2. Хромосомні хвороби.
3. Мультифакторіальні захворювання.
4. Рідкісні спадкові хвороби. Клінічні спостереження
5. Лекції.
6. Презентації.

Редакція приймає до публікації оригінальні, оглядові статті, лекції та інші матеріали українською, російською та англійською мовами з різних проблем генетики та пов'язаних з нею тем: обсяг оригінальної статті до 10 сторінок (включаючи таблиці, ілюстрації, резюме, перелік посилань та ін.); лекції, оглядові статті – до 15 сторінок, короткі повідомлення, рецензії – до 5 сторінок, інші матеріали (історичні нариси, ювілеї) – 2-3 сторінки.

Шрифт Times New Roman, 12 кегль, інтервал – 1,5; поля – по 2,0 см, в редакторі Word версії 97-2003 / rtf. Не рекомендується автоматично переносити слова в текстовому редакторі.

Назва файлу повинна відповідати прізвищу першого автора.

До статті додаються:

- Офіційне направлення в установленому порядку з візою керівника установи, де було виконано роботу, завірене круглою печаткою.
- Висновок біоетичної експертизи.

Дані про авторів (**обов'язково для всіх!**): Прізвище, ім'я, по – батькові; науковий ступінь, вчене звання; місце роботи, посада; контактні дані: поштова адреса, контактний номер телефону, e-mail.

До статті необхідно додати ксерокопії авторських свідоцтв, патентів, посвідчень на раціоналізаторські пропозиції. Рукопис необхідно власноруч підписати всім авторам. Відомості про авторів повинні бути надані на окремій сторінці і в окремому файлі.

Статті і матеріали необхідно подавати в друкованому та електронному варіантах. Текст статті друкувати на стандартному аркуші (формату A4 210x297) в двох примірниках, один з яких повинен мати підписи всіх авторів. Текстовий файл на CD диску повинен бути повним аналогом тексту на папері. Назву файлу треба вказувати латинськими літерами відповідно прізвища першого автора і відзначати на обкладинці диска. Весь матеріал необхідно вмістити в одному файлі.

### **1. Структура статті**

1. **У заголовку статті** зазначають: УДК (універсальний десятковий класифікатор), ініціали та прізвище автора (авторів), назву статті; назву установи (навчальний заклад, НДІ, ЛПУ і т.д.), де була виконана робота, в називному відмінку, з обов'язковим зазначенням відомчої належності, країну, місто.

2. Даний блок інформації повинен бути представлений українською, російською та англійською мовами. Прізвища авторів доцільно вказувати транслітерацією за системою BGN (Board of Geographic Names) <http://www.slovnuk.ua/services/translit.php>, паспортна транслітерація). Важливо вказувати офіційно прийняту назву установи, де була виконана робота.

3. **Розширене резюме** українською, російською та англійською мовами, в обсязі не більше 2 друкованих сторінок (назва статті, ініціали та прізвища авторів, назва установи, місто, країна і коротка інформація про матеріал рукописи: вступ, мета, матеріали і методи, результати дослідження, висновки). Шрифт Times New Roman, 12 кегль, інтервал – 1,5; поля – по 2,0 см, в редакторі Word 97-2003 / rtf.

4. **Ключові слова:** українською, російською та англійською мовами (розділовий знак «;»).

**Текст статті** повинен мати такі розділи:

- (при публікації) результати оригінальних наукових досліджень: вступ, мета і завдання дослідження, матеріали і методи, результати та їх обговорення, висновки, перспективи подальших досліджень, література (назва розділів має бути виділено жирним шрифтом);

- 
- 
- лекційні статті – обґрунтування теми, план, основна частина (загальноприйняті підходи до подання матеріалу), заключна частина;
  - оглядові статті – авторське рішення викладення матеріалу, узагальнення (або висновки), рекомендації для розвитку наукового напрямку і / або практичної медицини;
  - випадки з практики – авторське рішення викладення матеріалу.

Літерні позначення та аббревіатури повинні бути пояснені в тексті при першому згадуванні.

5. Таблиці, ілюстрації та графічний матеріал подаються з використанням редакторів WORD з відповідними посиланнями в тексті, їх кількість повинна відповідати змісту статті. Графічний матеріал не повинен дублювати матеріали таблиць. Графіки та схеми не слід перевантажувати текстовою інформацією.

Порядковий номер таблиці вказується у верхньому правому куті; нижче, на наступному рядку пишеться назва таблиці. Порядковий номер малюнка вказується внизу, зліва під малюнком. Після номера, на тому самому рядку – назва малюнка, на наступному – пояснення умовних позначень – цифр, букв і т.п. У підписах до мікрофотографій вказується збільшення і метод забарвлення.

Цифрові результати повинні бути представлені в міжнародних одиницях (СИ). Не можна вживати скорочення, які не є загальноприйнятими. Назви фірм, реагентів та обладнання, які були використані в роботі, подаються в оригінальному написанні з уточненням країни виробника.

6. Бібліографічні посилання в тексті статті вказуються цифрою в квадратних дужках; номер посилання – у списку використаної літератури в порядку їх цитування в тексті. Бібліографія повинна містити, крім основних робіт, публікації останніх 5 років. Посилання на неопубліковані роботи не припускаються. Автор несе відповідальність за правильність подання бібліографічних даних.

Список літератури друкується на окремому аркуші через 1,0 інтервал в порядку цитування в тексті. Кількість цитованих публікацій в оригінальних статтях не повинна перевищувати 30 літературних джерел, в оглядових – 60, в лекціях та інших матеріалах – не більше 30.

Список літератури повинен бути представлений згідно рекомендацій щодо оформлення посилань в наукових роботах з Ванкуверського стилю (Vancouver style) (Citing and referencing: Vancouver: a guide to the styles recommended by Monash schools and departments for students and researchers / Monash University Library. 2015 URL: <http://guides.lib.monash.edu/citing-referencing/vancouver> (viewed on 13.10.2016).

Всі статті проходять подвійне сліпе рецензування.

Стаття повинна бути вивірена орфографічно і стилістично. Редакція залишає за собою право виправлення термінологічних і стилістичних помилок, усунення ілюстрацій, які не мають прямого відношення до тексту статті; скорочення тексту статті.

Статті, надіслані авторам для корекції, в тому числі, при неправильному оформленні списку літератури, необхідно повернути до редакції не пізніше 10 днів після отримання. Повернення статті в більш пізні терміни змінює попередню дату її надходження з повторною реєстрацією.

Матеріали, які були оформлені з порушеннями вимог біоетичної експертизи, некоректні за змістом, з грубими статистичними помилками, що не підлягають корекції, повертаються авторам. У разі відмови в публікації статті автору відправляється мотивований лист. Примірник статті залишається в архіві редакції в електронному вигляді.

Дотримуючись етичних норм, автор несе відповідальність за те, що представлений рукопис є оригінальною, раніше не опублікованою працею, і не був представлений для публікації в інші видання.

У списку авторів мають бути зазначені лише тільки ті, хто відповідно до етичних норм академічної спільноти можуть вважатися авторами.

Рукописи редакція не повертає, гонорар авторам не сплачується, після публікації всі авторські права належать редакції, передрукування робіт без дозволу редакції заборонено.

Після виходу номера журналу автор статті або авторський колектив (за першим автором) отримує 1 примірник журналу поштовим переказом.

Матеріали для публікації і супровідні документи просимо надсилати за адресою: 61022, м. Харків, пр. Незалежності, 13; Український інститут клінічної генетики ХНМУ, редакція журналу «Клінічна генетика і перинатальна діагностика».

Електронна адреса журналу: [kgapd@ukr.net](mailto:kgapd@ukr.net)

---

---

# ТРЕБОВАНИЯ ДЛЯ ОФОРМЛЕНИЯ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ В МЕДИЦИНСКОМ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОМ ЖУРНАЛЕ

«Клиническая генетика и перинатальная диагностика»

2018 год

## Разделы журнала:

1. Моногенные болезни.
2. Хромосомные болезни.
3. Мультифакториальные заболевания.
4. Редкие наследственные болезни. Клинические наблюдения.
5. Лекции.
6. Презентации.

Редакция принимает к публикации оригинальные, обзорные статьи, лекции и прочие материалы на украинском, русском и английском языках по разным проблемам генетики и связанных с ней темам: объем оригинальной статьи до 10 страниц (включая таблицы, иллюстрации, резюме, перечень ссылок и т.д.); лекции, обзорные статьи - до 15 страниц, краткие сообщения, рецензии - до 5 страниц, другие материалы (исторические очерки, юбилеи) - 2-3 страницы. Шрифт Times New Roman, 12 кегль, интервал - 1,5; поля - по 2,0 см, в редакторе Word версии 97-2003/rtf. Не рекомендуется автоматически переносить слова в текстовом редакторе.

Название файла должно соответствовать фамилии первого автора.

### К статье прилагаются:

- Официальное направление в установленном порядке с визой руководителя учреждения, в котором выполнена работа, заверенное круглой печатью.
- Вывод биоэтической экспертизы.

Данные об авторах (**обязательно для всех!**): фамилия, имя, отчество; научная степень, ученое звание; место работы, должность; контактные данные: почтовый адрес, контактный номер телефона, e-mail. К статье необходимо приложить ксерокопии авторских свидетельств, патентов, удостоверений на рационализаторские предложения. Рукопись необходимо собственноручно подписать всем авторам. Сведения об авторах должны быть предоставлены на отдельной странице и в отдельном файле.

Статьи и материалы подавать в печатном и электронном вариантах. Текст статьи печатать на стандартном листе (формата А4 210x297) в двух экземплярах, один из которых с подписями всех авторов. Текстовый файл на CD диске должен быть полным аналогом текста на бумаге. Название файла надо указывать латинскими буквами, соответственно фамилии первого автора и отмечать на обложке диска. Весь материал необходимо вложить в одном файле.

## 1, Структура статьи

1. **В заголовке статьи** указывают: УДК (универсальный десятичный классификатор), инициалы и фамилия автора (авторов), название статьи; название организации (учебное заведение, НИИ, ЛПУ и т.д.), где выполнена работа, в именительном падеже, с обязательным указанием ведомственной принадлежности; страну, город.

2. Данный блок информации должен быть представлен на украинском, русском и английском языках. Фамилии авторов целесообразно указывать транслитерацией по системе BGN (Board of Geographic Names) <http://www.slovnuk.ua/services/translit.php>, паспортная транслитерация). Важно указывать официально принятое название организации, где выполнена работа.

3. **Расширенное резюме** на украинском, русском и английском языках, не более 2 печатных страниц (название статьи, инициалы и фамилии авторов, название учреждения, город, страна и краткая информация о материале рукописи: введение, цель, материалы и методы, результаты исследования, выводы). Шрифт Times New Roman, 12 кегль, интервал - 1,5; поля - по 2,0 см, в редакторе Word 97-2003/rtf.

4. **Ключевые слова:** на украинском, русском и английском языках (разделительный знак «;»).

**Текст статьи** должен иметь следующие разделы:

- при публикации результатов оригинальных научных исследований: вступление, цель и задачи исследования, материалы и методы, результаты и их обсуждение, выводы, перспективы

---

---

дальнейших исследований, литература (название разделов должно быть выделено жирным шрифтом);

- лекционные статьи - обоснование темы, план, основная часть (общепринятые подходы к представлению материала), заключительная часть;
- обзорные статьи - авторское решение изложения материала, обобщение (или выводы), рекомендации для развития научного направления и/или практической медицины;
- случаи из практики - авторское решение изложения материала.

Буквенные обозначения и аббревиатуры должны быть объяснены в тексте при первом упоминании.

5. Таблицы, иллюстрации и графический материал подаются с использованием редакторов WORD с соответствующими ссылками в тексте, их количество должно соответствовать содержанию статьи. Графический материал не должен дублировать материалы таблиц. Графики и схемы не следует перегружать текстовой информацией.

Порядковый номер таблицы указывается в верхнем правом углу; ниже, на следующей строке пишется название таблицы. Порядковый номер рисунка указывается внизу, слева под рисунком. После номера, на той же строке - название рисунка, на следующем - объяснение условных обозначений - цифр, букв и т.п. В подписях к микрофотографиям указывается увеличение и метод окраски.

Цифровые результаты должны быть представлены в международных единицах (СИ). Нельзя употреблять сокращения, которые не являются общепринятыми. Названия фирм, реагентов и оборудования, использованных в работе, подаются в оригинальном написании с уточнением страны производителя.

6. Библиографические ссылки в тексте статьи указываются цифрой в квадратных скобках; номер ссылки - в списке использованной литературы в порядке их цитирования в тексте. Библиография должна содержать, помимо основных работ, публикации последних 5 лет. Ссылки на неопубликованные работы не допускаются. Автор несет ответственность за правильность представления библиографических данных.

Список литературы печатается на отдельном листе через 1,0 интервал в порядке цитирования в тексте. Количество цитируемых публикаций в оригинальных статьях не должно превышать 30 литературных источников, в обзорных - 60, в лекциях и других материалах - не более 30.

Список литературы должен быть представлен согласно рекомендаций по оформлению ссылок в научных работах по Ванкуверскому стилю (Vancouver style) (Citing and referencing: Vancouver: a guide to the styles recommended by Monash schools and departments for students and researchers / Monash University Library. 2015 URL: <http://guides.lib.monash.edu/citing-referencing/vancouver> (viewed on 13.10.2016).

Все статьи проходят двойное слепое рецензирование.

Статья должна быть выверена орфографически и стилистически. Редакция оставляет за собой право исправления терминологических и стилистических ошибок, устранения иллюстраций, не имеющих прямого отношения к тексту статьи; сокращения текста статьи.

Статьи, присланные авторам для коррекции, в том числе, при неправильном оформлении списка литературы, необходимо вернуть в редакцию не позднее 10 дней после получения. Возвращение статьи в более поздние сроки изменяет предварительную дату её поступления с повторной регистрацией.

Материалы, оформленные с нарушениями требований биоэтической экспертизы, некорректные по содержанию, с грубыми статистическими ошибками, не подлежащими коррекции, возвращаются авторам. В случае отказа в публикации статьи автору отправляется мотивированное письмо. Экземпляр статьи остается в архиве редакции в электронном виде.

Следуя этическим нормам, автор несёт ответственность за то, что представленная рукопись является оригинальным, ранее не опубликованным трудом, и не представлена для публикации в другие издания.

В списке авторов перечислены только те, кто в соответствии с этическими нормами академического сообщества могут считаться авторами.

Рукописи редакция не возвращает, гонорар авторам не платится, после публикации все авторские права принадлежат редакции, перепечатывание работ без разрешения редакции запрещено.

Материалы для публикации и сопроводительные документы просим направлять по адресу: 61022, г. Харьков, пр. Независимости, 13; Украинский институт клинической генетики ХНМУ, редакция журнала «Клінічна генетика і перинатальна діагностика».

Электронный адрес журнала: [kgard@ukr.net](mailto:kgard@ukr.net)

---

---

**REQUIREMENTS FOR MATERIAL FORMATTING  
FOR PUBLICATION  
IN MEDICAL SCIENTIFIC JOURNAL  
“Clinical genetics and perinatal diagnosis”  
2018**

**Section titles:**

1. Monogenic diseases.
2. Chromosomal diseases.
3. Multifactorial diseases.
4. Rare inherited diseases. Clinical observations.
5. Lectures.
- 6.. Presentations.

The editorial board accepts original articles, review articles, lectures and other materials in Ukrainian, Russian and English on various problems in genetics and related topics for the publication: the volume of the original article is up to 10 pages (including tables, illustrations, summaries, references, etc.); lectures, review articles - up to 15 pages, short articles, reviews - up to 5 pages, other materials (historical essays, anniversaries) - 2-3 pages. Times New Roman, 12 size, interval - 1.5; field - 2.0 cm, Word version 97-2003 / rtf. It is not recommended to automatically transfer words in a text editor.

The file name must match the first author's last name.

Attached files to the article are:

- The official referral with the visa of the head of the institution, in which the work is performed, certified by the round seal.

- Conclusion of bioethical expertise.

Data on authors (mandatory for everyone!): First name, Last name, Middle Name; scientific degree, academic title; Place of work, position; contact details: postal address, contact phone number, e-mail. It is necessary to attach photocopies of copyright certificates, patents, certificates for rationalization proposals. A manuscript must be personally signed by all authors. Information about authors should be provided on a separate page and in a separate file.

Articles and materials should be submitted in printed and electronic versions. The text of the article should be printed on a standard sheet (A4 format 210x297) in two copies, one of which with the signatures of all authors. A text file on a CD must be a complete analog of the text on paper. The file name should be indicated in Latin letters, respectively, the names of the first author and mark on the cover of the disc. All material must be placed in one file.

**Structure of the article**

1. The title of the article include: UDC (universal decimal classifier), initials and surname of the author (authors), title of the article; the name of the organization (educational institution, research institute, health facility, etc.), where work is performed, in the nominative case, with obligatory indication of departmental affiliation; country, city.

This block of information should be presented in Ukrainian, Russian and English. The Last Name of the authors should be transliterated according to the BGN (Board of Geographic Names) system <http://www.slovyk.ua/services/translit.php>, passport transliteration). It is important to indicate the officially accepted name of the organization where the work is done.

2. An expanded abstract in Ukrainian, Russian and English, should be no more than 2 printed pages (title of the article, initials and last names of authors, institution name, city, country and brief information about the manuscript: introduction, purpose, materials and methods, conclusions). Font Times New Roman, 12 size, interval - 1.5; fields - by 2.0 cm, in the editor Word 97-2003 / rtf.

3. Keywords: in Ukrainian, Russian and English languages (separating sign “;”).

4. The text of the article should have the following sections:

- when publishing the results of original scientific research: introduction, purpose and objectives of the study, materials and methods, results and their discussion, conclusions, prospects for further research, literature (the title of the sections should be shown in bold);

- lecture articles - substantiation of the topic, the plan, the main part (generally accepted approaches to the presentation of the material), the final part;

---

---

- review articles - author's decision of the presentation of the material, generalization (or conclusions), recommendations for the development of the scientific direction and/or practical medicine;

- cases from practice - the author's solution of the presentation of the material.

The alphabetical references and abbreviations should be explained in the text at the first mention.

5. Tables, illustrations and graphical material are submitted using WORD editors with the appropriate references in the text, their number should correspond to the content of the article. Graphic material should not duplicate the materials of the tables. Graphs and charts should not be overloaded with textual information.

Index number of the table is indicated in the upper right corner; below, the name of the table is written on the next line. The ordinal number of the figure is indicated below, to the left under the figure. After the number, on the same line - the name of the picture, on the next - the explanation of the symbols - numbers, letters, etc. In the signatures to the micro photographs, an increase and the coloring method are indicated.

Digital results must be presented in international units (SI). You can not use abbreviations that are not generally accepted. The names of the companies, reagents and equipment used in the work are submitted in the original spelling with the specification of the manufacturing country.

6. Bibliographic references in the text of the article are indicated by number in square brackets; the reference number - in the list of references used in the order in which they are cited in the text. The bibliography should contain, in addition to the main works, publications of the last 5 years. Links to unpublished works are not allowed. The author is responsible for the correct presentation of bibliographic data.

The list of literature is printed on a separate sheet in 1.0 interval in the order of citation in the text. The number of publications cited in original articles should not exceed 30 literature sources, in reviews - 60, and not more than 30 in lectures and other materials.

The list of references should be presented in accordance to the recommendations on the formatting of references in scientific works Vancouver style (Vancouver style) (Monarch University Library URL: <http://guides.lib.monash.edu/citing-referencing/vancouver> (viewed on 13.10.2016).

All articles are double-blinded reviewed.

It is necessary to verify spelling and stylistic. The editors reserve the right to correct terminological and stylistic errors, to remove illustrations that do not directly relate to the text of the article; shortening the text of the article.

Articles sent to the authors for correction, including, incorrect literature reference, must be returned to the editor not later than 10 days after receipt. The return of the article at a later date changes the preliminary date of its receipt with a re-registration.

Materials issued with non-compliance of bioethical examination, incorrect in content, with gross statistical errors that are not subject to correction, are returned to the authors. In case of refusal to publish an article, we send the author a motivated letter. A copy of the article remains in the archives of the editorial board in electronic form.

Following ethical standards, the author is responsible for the fact that the manuscript is original, previously unpublished work, and is not submitted for publication in other publications.

The list of authors are only those who, according to the ethical norms of the academic community, can be considered authors.

The editorial board does not return manuscripts, we don't pay author's fees, all copyrights belong to the editorial board after publication, reprinting of works without permission of the editorial board is prohibited.

Materials for publication and accompanying documents should be sent to: 1310 Nezavisimosti Ave., Kharkov, 61022; Ukrainian Institute of Clinical Genetics, KhNMU, editorial board of "Clinical Genetics and Perinatal Diagnostics" journal.

Electronic journal address: [kgapd@ukr.net](mailto:kgapd@ukr.net)

---

---

**КЛІНІЧНА ГЕНЕТИКА**  
**I**  
**ПЕРИНАТАЛЬНА ДІАГНОСТИКА**

---

**CLINICAL GENETICS AND PERINATAL  
DIAGNOSTICS**

**№ 2 (5) (2018)**

Відповідальний за випуск І.Б. Іванова

Комп'ютерна верстка В.М. Серіков

Підписано до друку 15.01.2019 р. Формат 60x84 1/8.  
Гарнітура Times New Roman. Друк офсетний. Наклад 200 прим. Папір крейдований гл.

Книга підготовлена до друку:  
ТОВ «Харків на Долонях»  
61010, м. Харків, вул. Нетіченська, 25.

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до державного реєстру видавців, виготівників і розповсюджувачів видавничої продукції  
ДК №2577, видано Державним комітетом телебачення і радіомовлення України від 04.08.2006 р.

[www.aida.com.ua](http://www.aida.com.ua)

Віддруковано: м. Харків,