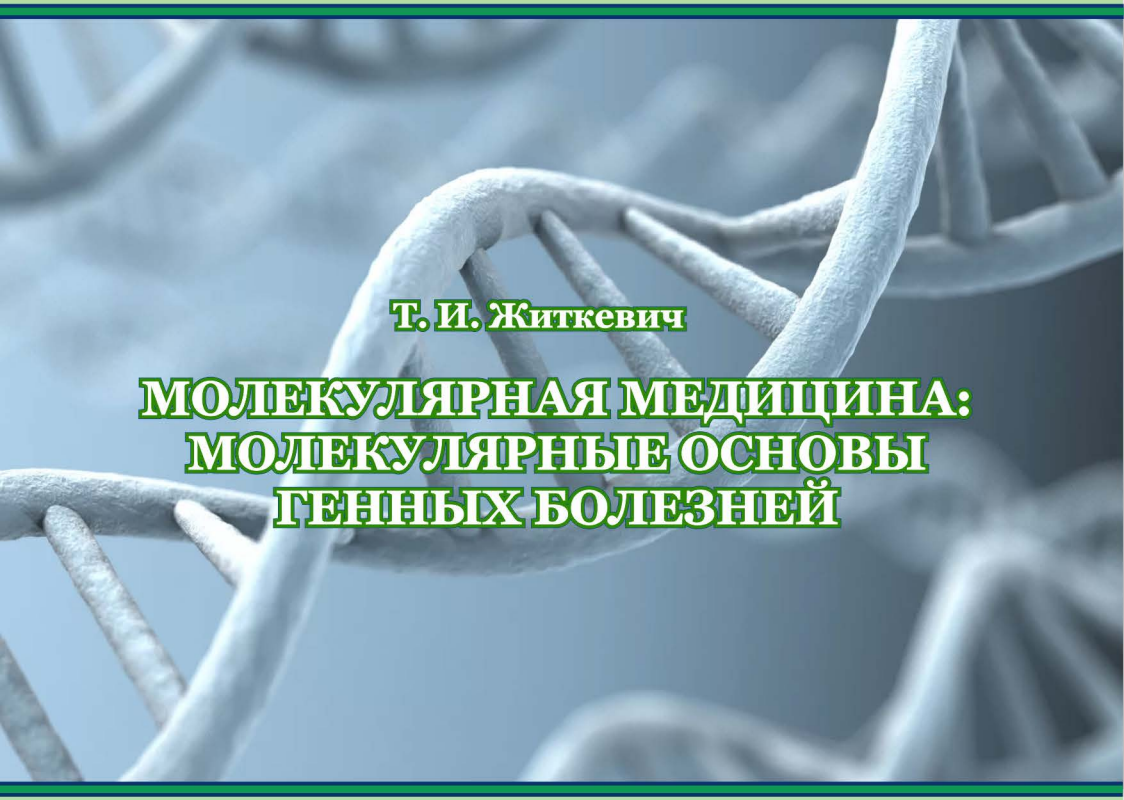


Т. И. Житкевич

МОЛЕКУЛЯРНАЯ МЕДИЦИНА: МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ГЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Учреждение образования
«Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова»
Белорусского государственного университета

Житкевич Т. И.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ МЕДИЦИНА: МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ГЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Курс лекций

Минск
«ИВЦ Минфина»
2018

УДК 577:61:575
ББК 28.070+28.04+5я7
Ж74

Р е ц е н з е н т ы:
доктор биологических наук, заведующий лабораторией моделирования генетических процессов ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси» *С. Е. Дромашенко*;
доктор биологических наук, профессор, директор РУП «БелНИЦ «Экология» *С. Б. Мельнов*

Житкевич, Т. И.

Ж74 Молекулярная медицина: молекулярные основы генных болезней : курс лекций / Т. И. Житкевич. – Минск : ИВЦ Минфина, 2018. – 94 с.

ISBN 978-985-7205-40-0.

В издании отражены основные направления молекулярной медицины. Приведены доказательства роли функциональных нарушений регуляции генов на уровне синтеза ДНК и РНК, вовлеченных в патогенез наследственных и опухолевых заболеваний. Обсуждается возможность проведения ДНК-диагностики на основе полученных результатов. Указаны причины межиндивидуальных различий фармакологического ответа на лекарственные средства. Представлены сведения об альтернативных способах лечения. Рассматриваются этиология и патогенез наследственных заболеваний.

Предназначается студентам специальности 1–33 01 05 «Медицинская экология» специализации 1–33 01 05 02 «Радиобиология», всем, кто интересуется проблемами молекулярной медицины.

УДК 577:61:575
ББК 28.070+28.04+5я7

ISBN 978-985-7205-40-0

© Житкевич Т. И., 2018
© МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ, 2018

ВВЕДЕНИЕ

Своим появлением молекулярная медицина обязана достижениям молекулярной биологии. К ним относятся такие открытия, как расшифровка генома человека, совершенствование генно-инженерных и клеточных технологий. Следует отметить, что в настоящее время биология и медицина вступили в новую фазу развития, и у врачей появились практически безграничные возможности для вмешательства в процессы жизнедеятельности человеческого организма.

Молекулярная медицина играет превалирующую роль в диагностике различных заболеваний и лечении пациентов. Общеизвестно, что единицей наследственности человека являются гены – структурно-функциональные участки ДНК. Нарушение структуры генов или регуляции синтеза белка приводит к возникновению и развитию болезни, причем набор указанных отклонений является специфическим для каждой из них. Исследования последних лет достигли таких возможностей в оценке экспрессии генов, что молекулярная диагностика стала играть важную роль в прогнозировании развития и течения заболеваний.

В настоящее время картирование и клонирование генов наследственных заболеваний, а также выявление в них мутаций успешно проводятся с помощью современных молекулярно-биологических методов. Перспективным становится изучение эпигенетической регуляции экспрессии гена: изменения его активности без каких-либо структурных модификаций.

Назревшей, актуальной проблемой является исследование причин возникновения рака. Рак относится к генетическим заболеванием – целый ряд фундаментальных фактов свидетельствует о ключевой роли повреждений молекул ДНК в развитии опухолевого процесса. Однако закономерности функционирования генома раковой клетки далеки от выяснения. Поэтому молекулярно-биологические исследования в онкологии становятся самостоятельным направлением в молекулярной медицине. На сегодняшний день они представляют собой в большей степени фундаментальную проблему, разрешение которой требует клиническая медицина.

Подходы молекулярной медицины оказываются полезными при планировании методов молекулярного лекарственного воздействия. Существование генетических различий диктует необходимость в индивидуальном подборе лекарственных средств. Эти вопросы изучает фармакогенетика – раздел молекулярной медицины, возникший на стыке фармакологии и генетики.

В настоящее время генная терапия рассматривается как альтернативный способ лечения широкого круга генетических и инфекционных

заболеваний, часто не поддающихся стандартному лечению. В роли лекарственного препарата выступают клонированный ген или искусственно синтезированные молекулы ДНК или РНК.

Новый класс патогенных мутаций человека («динамические» мутации) являются основой наследственных заболеваний – болезней экспансии. Их суть заключается в нарастании числа триплетных повторов, расположенных в регуляторной или кодирующей (транскрибируемой) части генов. Практически для всех динамических мутаций характерно поражение головного мозга и особенно подкорковых структур, что сопровождается, как минимум, той или иной степенью слабоумия. Тяжесть заболевания и его начало четко коррелирует с числом повторов.

Наследственные болезни человека обусловлены генными мутациями. Молекулярная основа наследственной патологии – это изменение состава нуклеотидной структурных генов и регуляторных участков. Большинство патологий характеризуется многообразием фенотипических проявлений или клиническим полиморфизмом, что обусловлено многочисленными факторами, влияющими на пенетрантность и экспрессивность генов, вызывающих патологию. Классификация генных болезней отражает тип наследования признака и локализацию соответствующего гена.

Законы Менделя и хромосомная теория наследственности – основа для изучения типов наследования признаков. Характер наследования моногенных признаков зависит от двух обстоятельств:

1) является признак доминантным или рецессивным;

2) находится ли соответствующий ген в аутосоме или в половой хромосоме. В соответствии с этим выделяют аутосомно-доминантный тип наследования, аутосомно-рецессивный и сцепленный с полом, который, в свою очередь, также может быть доминантным или рецессивным.

В последние десятилетия накопилось много фактов, свидетельствующих о наличии большого числа отклонений от менделеевских типов наследования. К неменделирующим заболеваниям с нетрадиционным типом наследования относятся митохондриальные болезни, однородительские дисомии и болезни геномного импринтинга, а также болезни экспансии, обусловленные присутствием динамических мутаций.

В генетическом контроле подавляющего большинства признаков организма может участвовать более одного гена. В этом случае говорят о полигенном наследовании. Иногда количество этих генов может достигать десятков или даже сотен. К классу полигенно наследуемых признаков относятся многие широко распространенные болезни человека – атеросклероз, гипертензия, сахарный диабет, язвенная болезнь, бронхиальная астма и многие другие мультифакториальные заболевания.

Лекция 1. Эпигенетические нарушения экспрессии генов

В настоящее время, когда картирование и клонирование генов наследственных заболеваний, частота и спектр мутаций в них определяются с помощью широкого спектра современных молекулярно-биологических методов, интерес исследователей все больше привлекают патологии, которые не связаны непосредственно со структурными нарушениями генов. В ближайшие годы доминирующие позиции будут занимать исследования функциональных нарушений экспрессии генов, обусловленных аномалиями регуляции на уровне ДНК и РНК.

Термин «эпигенетика» был предложении в 1965 г. эмбриологом К. Уодингтоном, объединившим два других («эпигенез» и «генетика») с целью показать, что генотип реализуется в фенотип благодаря влиянию многих модифицирующих факторов. «Эпигенез» описывает постепенное формирование органов и тканей эмбриона из недифференцированной массы клеток, не учитывая всего разнообразия генетических факторов.

Геном человека содержит информацию двух видов – генетическую и эпигенетическую. Генетическая информация – руководство по созданию живого организма, а эпигенетическая – как, где и когда должна быть реализована эта генетическая информация. Эпигенетика исследует изменения в экспрессии определенных ДНК-последовательностей, которые не могут быть объяснены классическими мутациями и структурными нарушениями. Таким образом, эпигенетика может рассматриваться как более высокий уровень генетической организации и регуляции, который не контролируется «центральной догмой» молекулярной биологии. ***Эпигенетическая регуляция*** – наследственные и ненаследственные изменения экспрессии конкретного гена без каких-либо структурных изменений в его нуклеотидной последовательности.

Эпигенетическим считаются явления импринтинга, эффекта положения, особенности структурно-функциональной организации хроматина, влияющие на экспрессию генов. В основе эпигенетической патологии на уровне ДНК лежит ряд механизмов:

1) аномалии метилирования промоторных и регуляторных структур гена;

2) структурные нарушения в отдаленных регуляторных районах гена;

3) экспансия некодирующих сателлитных последовательностей генома;

4) транспозиции повторяющихся последовательностей генома;

5) инактивирующее влияние крупных блоков структурного гетерохроматина.

Геномный импринтинг и наследственная патология

Геномный импринтинг является эпигенетическим механизмом регуляции экспрессии гомологичных генов в процессе развития организма в зависимости от родительского происхождения гена, хромосомы или генома.

Эпигенотип (импринт) – совокупность модификаций, которые по-разному маркируют родительские аллели генов на хромосомах отцовского и материнского происхождения.

Импринтированный ген по-разному экспрессируется в зависимости от материнского и отцовского происхождения. В диплоидной клетке он экспессируется только с одного аллеля.

Общие представления о геномном импринтинге

В настоящее время в геноме известно до 70 генов, подверженных импринтингу, предполагается, что их может быть не 100–200. Целый ряд заболеваний по характеру наследования и проявления может возникать вследствие импринтинга.

Примерами патологий вследствие наличия геномного импринтинга является ряд наследственных синдромов, обусловленных хромосомными делециями или частичной моносомией. Пациенты с синдромом Шерешевского–Тернера (моносомия Х-хромосомы), у которых обнаружена потеря отцовской Х-хромосомы, умственно нормальны, а если утрачена материнская хромосома, то эмбрион спонтанно абортируется в первом триместре беременности или пациенты имеют различные аномалии сердечно-сосудистой системы, выраженные крыловидные складки на шее и другие аномалии.

Проявления нейрофиброматоза 2 типа и эпилепсии более тяжелые, если мутации наследуются от матери. Шизофрения проявляется в более тяжелых формах, если наследуется по отцовской линии.

Условно к геномному импринтингу относят ряд заболеваний, связанных с экспансией тринуклеотидных повторов. Среди них наиболее распространенными являются синдром Мартина–Белл (Xq27.3), миотоническая дистрофия (9q13.3), хорея Гентингтона (4q16.3). Гены этих трех заболеваний содержат участки высокополиморфных триплетных повторов. Установлено, что амплификация этих повторов происходит во время гаметогенеза. Амплификация тринуклеотидного повтора (CGG) при синдроме Мартина – Белл и повторов CTG (миотоническая дистрофия) происходит во время оогенеза, в то время как амплификация повтора CAG при хорее Гентингтона – во время сперматогенеза.

Механизмы геномного импринтинга

Согласно современным представлениям, в основе геномного импринтинга у млекопитающих лежат специфические морфо-молекулярные изменения некоторых хромосомных участков, происходящие во время формирования мужских и женских половых клеток, которые приводят к стойким различиям экспрессии отцовских и материнских генов у потомства. Предполагается, что импринтинг изменяет структуру гена так, что регуляторные факторы, действие которых проявляется в клетке позднее, распознают импринтированные (видоизмененные каким-то образом) материнские и отцовские аллели и избирательно их инактивируют. Отсутствие проявления таких факторов, как и нарушение модификации генов, может приводить к потере их нормальной моноаллельной экспрессии.

Совокупность модификаций, которые по-разному маркируют родительские аллели и обеспечивают моноаллельный характер экспрессии импринтированных генов на хромосомах отцовского или материнского происхождения, называют эпигенотипом (импринтом). При изучении явления импринтинга было высказано предположение, что моноаллельное подавление активности импринтированных генов достигается теми же механизмами, которые обеспечивают тканеспецифический характер многих обычных биаллельно функционирующих генов.

Наиболее изученной эпигенетической модификацией, обеспечивающей процессы импринтинга, является специфическое метилирование цитозиновых остатков ДНК по 5-му углеродному атому. Это единственная допустимая в физиологических условиях химическая модификация ДНК у позвоночных. Важнейшие особенности метилирования ДНК – это стабильное сохранение в ряду многих поколений, а также прямое или косвенное влияние на экспрессию генов.

Установлено, что все известные импринтированные гены содержат области различного метилирования на двух родительских хромосомах, причем эти различия обязательны для их моноаллельной экспрессии. Гиперметилирование гена обычно подавляет транскрипционную активность и в большинстве случаев обнаруживается на неактивных аллелях. Дифференциальное метилирование родительских аллелей, как правило, наблюдается внутри или рядом с CG-богатыми районами, которые нередко содержат разные типы повторов.

Практически все импринтированные гены содержат повторы, которые участвуют в импринтировании или метилировании определенного гена. Они могут служить мишенью для маркирования определенного аллеля за счет организации вторичной структуры ДНК, уникальной для одного из аллелей. Повторяющиеся последовательности создают некие свернутые структуры, узнаваемые гетерохроматин-специфическими белками.

Следует отметить, что транскрипционная активность гена существенно зависит от структурной организации хроматина в районе промотора и примыкающей области. Инактивация транскрипции обычно сопровождается уплотнением хроматина (гетерохроматизацией), в результате чего ДНК становится менее доступной для РНК-полимеразы. Гипераце-тилирование коровых гистонов нуклеосомы сопровождается деконденсированием хроматиновых структур сопряжено с функциональной активностью генов.

Таким образом, функциональная активность импринтированных генов, помимо метилирование, в значительной степени определяется структурной организацией хроматина.

Одним из ведущих направлений в изучении механизмов импринтинга является наблюдение за изменением эпигенетических свойств отцовских и материнских аллелей на протяжении онтогенетического развития. Установлено, что на самых ранних стадиях развития гамет, а именно в первичных половых клетках эмбриона метилирование как импринтированных, так и неимпринтированных генов (полученных от родителей) теряется «стирается» и наблюдается биаллельная экспрессия импринтированных локусов, следовательно, на этом этапе эпигенетические различия между отцовскими и материнскими аллелями отсутствуют.

Метилирование на импринтированных локусах происходит на последующих этапах дифференцировки гамет. В овогенезе установление нового «импринта» происходит на стадии роста овоцита 1-го порядка (со 2 месяца внутриутробного развития до менструации). Срок установления мужского «эпигенотипа» в сперматогенезе окончательно не выяснен, предполагается, что это происходит в сперматоцитах 1-го порядка до наступления (или во время) профазы 1-го деления мейоза) до полового созревания). Основным ферментом, обеспечивающим метилирование *de novo* и поддерживающим его в геноме млекопитающих, является ДНК-метилтрансфераза.

Существенным остается вопрос о том, как в соматических клетках происходит «расшифровка импринта», а также, с помощью каких клеточных факторов происходит распознавание эпигенотипа и реализация конкретной программы функционирования генов. На примере самой изученной эпигенетической модификации – метилирования ДНК – показана возможность как прямого, так и косвенного влияния импринта на экспрессию конкретного гена.

В случае прямого воздействия метилированию подвергается сам импринтированный ген: ДНК-связывающие белки вызывают гетерохроматизацию метилированного локуса. В результате ограничивается доступ транскрипционных активаторов к ДНК и экспрессия гена прекращается.

Косвенное влияние метилирования на экспрессию импринтированных генов предполагает модификацию не самого импринтированного гена, а расположенного в цис-положении (на той же хромосоме) другого гена – «импринтора». Функция гена - «импринтера» сводится к поддержанию моноаллельной экспрессии одного или нескольких импринтированных локусов в пределах данного кластера. Понятие о генах-«импринторах» возникло в связи с моделью конкурентной экспрессии, которая объясняет механизм поддержания моноаллельного функционирования генов в соматических тканях.

Модель объясняла функционирование кластера импринтированных генов на хромосоме 7 мыши, содержащего ген *H19* с материнской экспрессией и ген инсулиноподобного фактора роста 2 *(Igf2)*, активный на отцовской хромосоме. Локус *H19* кодирует нетранслируемую мРНК и является геном-«импринтером» для расположенного в цис-положении гена *Igf2*. Происходит конкуренция промоторов *H19* и *Igf2* за доступ к общему энхансеру, тесно сцепленному с геном *H19*. На материнской хромосоме, где промотор гена *H19* не подвержен метилированию, *H19* активно транскрибируется, находясь под влиянием энхансера. Для промотора *Igf2* в этом случае энхансер недоступен, поэтому на материнской хромосоме ген *Igf2* неактивен. На отцовской хромосоме, где промотор *H19* инактивирован метилированием, ген *Igf2* получает доступ к энхансеру и активно транскрибируется.

У экспериментальных мышей, несущих делецию материнской копии *H19*, происходит активация гена *Igf2* на материнской хромосоме и наблюдается биаллельная продукция *Igf2*. Метилирование промотора *H19* на материнской хромосоме также приводит к биаллельной экспрессии *Igf2*. У мышей с дефектным геном ДНК-метилтрансферазы наблюдается биаллельное функционирование *H19* и биаллельное «молчание» *Igf2*. Таким образом, экспрессия импринтированного гена *Igf2* контролируется посредством метилирования регуляторного гена-«импринтера» *H19*.

Необходимо отметить, что гены-«импринтеры» часто (или всегда) кодируют нетранслируемую РНК.

Синдромы Прадера–Вилли и Ангельмана

Клиническая характеристика синдрома Прадера–Вилли

Впервые синдром Прадера–Вилли (СПВ) был описан в 1956 г. Основными диагностическими признаками являются ожирение, мышечная гипотония, низкий рост, гипогонадизм, умственная отсталость различной степени выраженности, признаки дизэмбриогенеза. Для новорожденных свойственна гипорефлексия, ослабление глотательного и сосательного рефлексов. В результате глубокой гипотонии может возникнуть асфик-

сия. Затруднения при кормлении постепенно проходят к 6 мес. В течение первых 12–18 мес. развивается неконтролируемая гиперфагия, которая вызывает ожирение и сердечную недостаточность. Больные отстают в росте и развитии. Вторичные половые признаки слабо выражены у обоих полов. Гипопигментация выявляется у 75 % больных. Продолжительность жизни составляет 25–30 лет. Взрослым больным свойственны эмоциональная лабильность, пониженные моторная активность и познавательная способность, гиперфагия и различные степени умственной отсталости. Частота синдрома в различных популяциях составляет 1:10 000–20 000 новорожденных. Основная масса случаев возникает спорадически, но встречаются и семейные формы.

Клиническая характеристика синдрома Ангельмана

Впервые синдром Ангельмана (СА) был описан в 1965 г. и получил название синдрома «счастливой куклы». Основные диагностические признаки: микробрахицефалия с уплощенным затылком, большая нижняя челюсть, приоткрытый рот с выступающим языком, макростомия, редко растущие зубы, гипопигментация. Из неврологических проявлений наиболее характерны задержка умственного и физического развития, атаксия, гипотония, судорожная готовность, гиперрефлексия, гиперкинезия. Приступы неконтролируемого смеха, хлопанье в ладоши и специфическое выражение лица предопределили название синдрома. Частота синдрома в популяции составляет 1:20 000.

Формы молекулярной патологии хромосомного района 15(q11–q13), вызывающие СПВ и СА

Делеция критического района 15(q11–q13). Наиболее частым дефектом при СА и СПВ является интерстициальная делеция критического района *15(q11–q13)* протяженностью 4 м. п. н., который содержит кластер импринтированных генов (2–3 м. п. н.). Эта делеция обнаружена у 70–75 % пациентов и возникает в популяции с частотой 0,67–1,0 на 10 000 новорожденных. Это позволяет считать ее самой распространенной хромосомной перестройкой у человека.

СПВ и СА – классические примеры наследственных заболеваний, возникновение которых зависит от родительского происхождения хромосомных перестроек. Причиной СПВ является делеция критического района на отцовской хромосоме 15, а СА возникает в случае делеции той же области на материнской хромосоме.

Случайный характер возникновения делеции критического района хромосомы *15(q11–q13)* при СПВ и СА, ее стандартная протяженность (4 м. п. н.), строгая локализация точек разрыва и одинаковая частота при обоих синдромах указывают на то, что возникновение делеции происхо-

дит в гаметогенезе родителей (одинаково часто в овогенезе и сперматогенезе) и объясняется мейотической нестабильностью этого хромосомного района.

Исследованиями установлено, что делеции при СПВ и СА могут возникать в гаметогенезе в результате внутри- и межхромосомных перестроек.

Однородительская дисомия. Вторая возможная причина развития СПВ и СА – однородительская дисомия (ОРД): наследование обоих гомологов хромосомы 15 от одного из родителей. Отцовская ОРД становится причиной заболевания у 3–5 % пациентов с СА, материнская ОРД наблюдается в 25 % от случаев СПВ. В силу функциональной неравнозначности отцовской и материнской хромосомы 15 наличие у ребенка двух структурно полноценных хромосом материнского происхождения не обеспечивает нормального развития и, как в случае отцовской делеции, приводит к развитию СПВ. Аналогично отцовская ОРД приводит к развитию СА.

Основным событием развития ОРД является нерасхождение хромосом в первом мейотическом делении созревания ооцита, следовательно, вероятность возникновения ОРД при СА и СПВ зависит от возраста матери (после 30 лет).

Эффект положения и генетическая патология

Эффект положения – нарушение или изменение уровня экспрессии гена в результате изменения его местоположения в структуре генома, но не сопровождающееся структурной патологией или мутацией.

Мозаичный эффект положения – клоновый характер уровня экспрессии гена в результате изменения его местоположения в геноме.

Многие гены наследственных заболеваний картированы в определенных хромосомных районах, а затем клонированы и изучены на предмет их организации и спектра мутаций. В ряде случаев картирование и клонирование генов-кандидатов было ускорено в результате обнаружения специфических структурных аномалий хромосом. Клонирование точек разрыва структурных аномалий хромосом позволило идентифицировать целый ряд генов: *RB1* при ретинобластоме; *DMD* при мышечной дистрофии Дюшенна; *NF1* при нейрофиброматозе.

Однако в ряде случаев клонирование точек разрыва не приводило к обнаружению искомого гена. Кроме того, когда ген заболевания был уже идентифицирован, у больного не удавалось выявить ни структурно патологии, ни точковых мутаций в гене. В таких случаях, когда известно, что патология должна быть только в конкретном гене, можно предположить наличие структурной или функциональной патологии вне этого ге-

на. Данную патологию можно отнести к нарушению эпигенетического характера, которому свойственнен эффект положения (ЭП).

ЭП – это нарушение или изменение уровня экспрессии гена в результате изменения его местоположения в структуре генома, но не ассоциированного со структурной патологией или мутацией. При этом сохраняется транскрипционная единица и промоторная область не изменена.

Существует, по крайней мере, три условия, определяющих нормальную экспрессию генов:

1. Наличие промоторной области, где происходит инициация транскрипции.

2. Наличие регуляторных элементов энхансеров, сайленсеров, представленных короткими последовательностями ДНК, содержащими сайты связывания транскрипционных факторов и служащих для организации процесса транскрипции с промоторной области гена. Эти элементы увеличивают специфичность создания транскрипционного комплекса на промоторе.

3. Определенная организация хроматина в районе расположения гена, так как энхансеры и промотор могут полноценно функционировать только при его деконденсированной структуре.

Экспрессия гена находится в значительной зависимости от его местоположения в геноме. Организация хроматина подразделяется на два типа: конденсированные районы гетерохроматина (ГХ) и деконденсированные районы эухроматина (ЭХ). ЭХ деконденсирован в интерфазе, содержит большинство генов и реплицируется в начале S-фазы. ГХ более конденсирован в течение клеточного цикла, реплицируется в конце S-фазы и содержит в основном повторяющиеся последовательности. Центромерные области состоят из структурного гетерохроматина (СГХ) – плотно конденсированного хроматина, содержащего повторяющиеся последовательности.

Известно, что хромосомные перестройки, приводящие к изменению нормального расположения гена, зачастую ведут к изменению уровня его экспрессии. Это явление называют эффектом положения. Существует несколько механизмов, лежащих в основе ЭП:

1. Хромосомная перестройка может отделить транскрипционную единицу от регуляторного района, прекращая его влияние на ген. Отсутствие энхансера ведет к снижению или полному прекращению транскрипции гена в соответствующей ткани. Наоборот, разделение гена и его сайленсера приводит к аномальному увеличению экспрессии гена.

2. Перестройка может переместить ген в район мощного энхансера другого гена, что приведет к неадекватной экспрессии гена.

3. Перестройка может переместить ген и его регуляторные последовательности в район другого гена. Конкуренция за регуляторный элемент

между геном заболевания и другим геном может привести к снижению уровня экспрессии гена заболевания.

4. Перестройка может привести к мозаичному эффекту положения (МЭП).

МЭП является вариабельной, наследуемой инактивацией экспрессии гена в результате его перемещения из области эухроматина в область гетерохроматина. Гетерохроматин имеет тенденцию к распространению на окружающие районы, плотно упаковывая их и инактивируя гены в рядом расположенных участках эухроматина. Первоначально такая компактизация ДНК является вариабельной в различных клетках и приводит к полной или частичной репрессии, или не влияет на экспрессию гена в конкретной клетке. Это приводит к различной экспрессии гена в идентичных клетках. В процессе развития эти различия закрепляются и имеют клоновый характер.

Степень мозаичности может зависеть от расстояния между геном и точкой разрыва – чем меньше расстояние между геном и районом ГХ, тем эффективнее репрессия.

В настоящее время выявлены гены, усиливающие или подавляющие МЭП. Эти гены-модификаторы кодируют структурные белки хроматина. Среди механизмов модификации хроматина наиболее полно изучено ацетилирование / деацетилирование гистонов.

Рассмотрен анамнез значительного количества пациентов, имеющих хромосомную перестройку, точки разрыва при которой находятся на некотором расстоянии от гена, вовлеченного в формирование патологического фенотипа. Наличие хромосомной перестройки и отсутствие внутригенных мутаций с высокой вероятностью свидетельствует в пользу ЭП, приводящего к отсутствию экспрессии гена. Одной из характеристик генов, подверженных ЭП, является либо недостаточность функционирования одной копии, либо сцепленность с половыми хромосомами – ЭП можно наблюдать в случае снижения или отсутствия одного аллеля.

Классическим примером ЭП у человека могут служить Х-аутосомные транслокации. Было изучено несколько транслокаций Х-хромосомы и хромосомы 13 у больных с ретинобластомой. Известно, что ретинобластома является моногенным заболеванием, клонирован только ген *RB1*, в котором описаны точковые мутации, и, поскольку он является геном-супрессором канцерогенеза, одной копии недостаточно для эффективного регулирования клеточной пролиферации. Известно также, что преимущественной инактивации подвергается поврежденная Х-хромосома. В случае транслокаций (Х; 13) точка разрыва на хромосоме 13 была локализована не в районе расположения гена *RB1 (13q14.1),* а на несколько м. п. н. от него в районе *13(q12–q13).*

Тем не менее больные имели ретинобластому с некоторыми аномалиями развития, характерными для делеций в этом районе. Таким образом, инактивация Х-хромосомы распространялась на значительное расстояние аутосомного района, инактивируя гены, расположенные в этом участке, в том числе гены *RB1*.

Наследственные заболевания, связанные с эффектом положения

Х-сцепленная глухота характеризуется фиксацией стремечка и нарушением проводимости слухового нерва. Ген *POU3F4* расположен в районе хромосомы *Xq21.1.* У больных обнаруживаются точковые мутации гена. В 4-х случаях мутации не обнаружены, но были выявлены микроделеции в районе, превышающем 400 т. п. н. от 5'-области гена.

XY-реверсия пола описана для полодетерминирующего гена *SRY*, картированного в коротком плече Y-хромосомы. Точки разрыва произошли в 5'- и 3'- районах гена. Делеции могут приводить к тому, что ген приближается к центромерному гетерохроматину, который может его инактивировать.

Лекция 2. Молекулярные механизмы канцерогенеза

Молекулярно-биологические исследования в онкологии являются самостоятельным направлением в молекулярной медицине и на сегодняшний день представляют собой в большей степени фундаментальную проблему, разрешения которой требует клиническая медицина.

Для опухоли характерно наличие активно делящихся клеток, не контролируемых внешними тормозящими сигналами. Ряд особенностей, дающих пролиферативные преимущества раковым клеткам, отличает их от нормальных клеток. Это, прежде всего, частичная или полная потеря дифференцировки, способность к росту без прикрепления к субстрату, уменьшение требований к сывороточным ростовым факторам, потеря контактного ингибирования, исчезновение ряда поверхностных макромолекул, делающих клетки более уязвимыми для действия иммунной системы и др. Необходимо отметить, что вновь приобретенные свойства раковых клеток находятся под контролем генов. Поэтому важнейшей задачей молекулярной онкологии является определение первопричин заболевания, общих закономерностей и механизмов регуляции опухолевого генома.

Деление клетки находится под сложным контролем системы позитивных и негативных регуляторов. К позитивным регуляторам роста относят гены, способные индуцировать клеточное деление. Класс негативных регуляторов роста составляют гены, препятствующие делению клетки. В процессе эволюции были выработаны механизмы, направленные как на сохранение генетической стабильности, так и на поддержание гомеостаза между действием двух систем регуляции деления клетки. Нарушение этого равновесия является причиной развития патологических процессов, сопровождающих злокачественный рост.

К классу позитивных регуляторов относятся протоонкогены, значительная часть которых идентифицирована по гомологии с вирусными онкогенами. Их канцерогенный эффект может проявиться при наличии активирующей мутации в гетерозиготном состоянии.

Гены-супрессоры опухолевого роста или антионкогены кодируют белки, относящиеся к системе негативных компонентов регуляции клеточной пролиферации и дифференцировки. Канцерогенный эффект генов-супрессоров может проявиться лишь при наличии гомозиготных повреждений, полностью инактивирующих их функции. В случае мутации генов, ответственных за репарацию ДНК, потеря способности восстанавливать поврежденную структуру ДНК может приводить к возникновению мутаций как в онкогенах, так и в генах-супрессорах.

Другими словами, в процессе канцерогенеза должно быть нарушено более одного пути регуляции клеточного цикла, то есть процесс озлокачествления является многошаговым.

Клеточные онкогены

На сегодняшний день известно более 100 клеточных онкогенов. Их эффект связан либо с производством аномального продукта, обладающего новой агрессивной функцией, либо с нарушением характера экспрессии генов, как правило, с гиперэкспрессией или с эктопической экспрессией: работой генов в неподходящий момент или в несвойственном типе клеток.

Агрессивная функция мутантного продукта онкогена связана с появлением у него способности к передаче сигнала, индуцирующего клетку к делению в отсутствие внешнего стимула. Подобный аномальный белок может образоваться вследствие доминантной мутации в онкогене. Такой же активностью может обладать слитный белок – продукт химерного транскрибируемого гена, образующегося при хромосомных перестройках. Слияние двух генов происходит в местах разрывов хромосом. Гены могут обладать различными функциями, но относящимися к регуляции клеточного роста, пролиферации или дифференцировки.

Гиперэкспрессия онкогенов обычно является результатом их избирательной амплификации. Другая причина гиперэкспрессии, как и эктопической экспрессии, – это нарушение регуляции работы протоонкогенов. Примером является гиперэкспрессия протоонкогенов, которые в результате хромосомной перестройки оказываются в районах генов Т-клеточных рецепторов или генов иммуноглобулинов, попадая под контроль их промоторов. Таким образом, хромосомные перестройки могут приводить к появлению химерных белков с новыми агрессивными функциями и гиперэкспрессии протоонкогенов.

Переход клетки от нормального физиологического состояния к состоянию пролиферации, дифференцировке, апоптозу или состоянию неконтролируемого роста определяется сменой каскада работающих генов. Процесс этот многоступенчатый и может регулироваться на разных этапах клеточного цикла. Существенную роль в нем играют межклеточные взаимодействия, медиаторами которых служат факторы роста. Факторы роста, связываясь со специфическими рецепторами на клетке, могут индуцировать активность одних и репрессию других транскрипционных факторов, что и определяет, в конечном счете, изменение набора работающих в клетке генов и ее вхождение в нормальный клеточный цикл.

Ключевым молекулярным механизмом передачи сигнала является фосфорилирование, поэтому в цепи сигнальной трансдукции участвуют регуляторные белки и вторичные мессенджеры, обладающие киназной

активностью. Центральная роль в системе генетического контроля деления клетки принадлежит протоонкогенам.

В опухолевых тканях редко находят мутантные формы генов факторов роста, но часто наблюдается их амплификация, гиперэкспрессия или нарушение тканеспецифической экспрессии.

Рецепторы факторов роста на клетках-мишенях, осуществляющие перевод внешнего сигнала роста во внутренний, как правило, состоят из трех доменов – внешнего лиганд-связывающего, трансмембранного и цитоплазматического тирозинкиназного. Они обладают аутофосфорилирующей способностью, которая появляется вследствие взаимодействия рецептора с лигандом. Для многих генов рецепторных тирозинкиназ показано, что они могут действовать как онкогены при возникновении в них доминантных мутаций, приводящих к постоянной активации рецептора в отсутствии лиганда.

Гены-супрессоры опухолевого роста

Количество генов-супрессоров составляет 150. Эти гены подразделяются на три группы: хранители клеточного цикла (ХКЦ), гены общего контроля (ГОК) и гены, поддерживающие «среду обитания» (ГСО).

Гены ХКЦ напрямую вовлечены в регуляцию клеточного цикла. Их белковые продукты способны сдерживать опухолевый рост, ингибируя процессы, связанные с делением клетки. Они связывают факторы, способствующие делению клетки, ингибируют киназы, обеспечивают антимитогенные сигналы, репрессируют транскрипционные гены, продукты которых стимулируют деление клеток. Для развития злокачественной опухоли необходимо два этапа трансформации генов этой группы:

1) нарушение функции ХКЦ вследствие мутации или структурных изменений (предрасположенность к возникновению опухоли);

2) возникновение еще одной мутации в неизмененном аллеле гена (опухоль становится злокачественной).

ГОК поддерживают стабильность генома, прямо или косвенно участвуя в репарации поврежденной ДНК. Их можно разделить на две группы:

1) гены, непосредственно участвующие в образовании многокомпонентных репарационных комплексов – повреждение в любом из них приводит к пигментной ксеродерме – заболеванию, характеризующемуся сверхчувствительностью к ультрафиолету и повышенной предрасположенностью к раку кожи. Продукты этих генов ДНК-связывающий белок, ДНК-хеликазы, эндонуклеаза, специфичная для одноцепочечной ДНК и др.; гены ответственные за репарацию двухцепочечной ДНК (ответственны за предрасположенность к развитию рака молочной железы);

2) гены, продукты которых ответственны за организацию задержек клеточного цикла, необходимых для репарации ДНК. К ним относится

ген-супрессор *p53*, мутации или делеции которого наблюдаются практически во всех типах опухолей, особенно на терминальных стадиях. Белок *p53* способен функционировать как активатор транскрипции. Показано, что множественные повреждения ДНК вызывают экспрессию гена *p53,* который, в свою очередь, активирует транскрипцию гена *WAF1*, кодирующего ингибитор циклин-зависимых киназ C1P1. C1P1 избирательно подавляет активность циклин D1/CDK4 и E/CDK2-комплексов, что приводит к задержке перехода клетки из фазы G1 в фазу S. Запускающая этот каскад индукция *p53* происходит в ответ на любые неспецифические повреждающие ДНК воздействия: ионизирующая радиация, свободные радикалы, действие эндонуклеаз рестрикции и др. Одновременно с подавлением репликации ДНК белок *p53* стимулирует ее репарацию, активируя транскрипцию гена *GADD45*, а также, связываясь с белком ERCC3, непосредственно участвующим в распознавании и вырезании поврежденных участков ДНК, ген *p53* играет ключевую роль и в запуске апоптоза. Поэтому опухоли, содержащие мутацию обоих его аллелей, хуже поддаются радио- и химиотерапии.

Потеря функции ГСО в клетках стромы приводит к аномальному функционированию белков внеклеточного матрикса, поверхностных клеточных маркеров, адгезионных молекул, факторов роста. Такое измененное окружение создает условия для роста опухолевых клеток, что приводит к злокачественной трансформации клеток паренхимы. Опухоль в основном состоит из клеток паренхимы, а измененные стромальные клетки составляют очень малую часть, хотя именно они и являются инициатором злокачественного процесса. Повреждения генов ассоциированы с синдромом ювенильного полипоза.

Двухударная модель канцерогенеза

Ген *RB1* был первым идентифицированным геном-супрессором опухолевого роста, на примере которого была сформулирована двухударная теория канцерогенеза Кнадсена. Эта гипотеза предполагает, что для перехода нормальной клетки в опухолевую необходимо два последовательных мутационных события («удара»). Первым событием является мутация, для которой повышен риск злокачественной трансформации. Такие мутации могут возникать как в соматических, так и в половых клетках. Показано, что при локализации первой мутации (структурное изменение нуклеотидной последовательности) в клетках сетчатки возникает доброкачественное новообразование – ретима. Для развития спорадической ретинобластомы необходимо появление в одной клетке двух соматических мутаций. Если же мутантный аллель гена *RB1* унаследован от одного из родителей, то вторая мутация, возникающая в ретиноме в 90 % случаев, приведет к развитию опухоли.

Вторым ударом, происходящим в соматической клетке, является мутация в неповрежденном аллеле гена *RB1,* либо потеря участка хромосомы, содержащего ген *RB1,* что тоже является структурным изменением ДНК, в результате чего клетка с повышенным риском превращается в раковую. Клетка начинает безостановочно делиться, что приводит к возникновению злокачественной опухоли.

Эпигенетическая регуляция экспрессии генов в опухоли

Не только генетические факторы могут определять развитие патологического процесса, но и эпигенетические – наследственные и ненаследственные изменения в экспрессии конкретного гена без каких-либо соответствующих структурных изменений его нуклеотидной последовательности. В качестве причин возникновения некоторых генетических и многих онкологических заболеваний все большая роль отводится эпигенетической регуляции активности генов, основанной на аномальном метилировании/диметилировании.

Во всех без исключения исследованных неопластических клетках был показан дисбаланс метилирования. Он заключается, с одной стороны, в общем гипометилировании генома опухолевой клетки, с другой – в локальном гиперметилировании промоторов ряда генов, вовлеченных в регуляцию клеточного цикла, а также в процессы дифференцировки и апоптоза.

На экспериментальных моделях была показана связь снижения общего числа метильных групп с опухолеобразованием. Для опухолей молочной железы, яичников, шейки матки и мозга была показана корреляция между снижением общего уровня метилирования генома и увеличением степени злокачественности опухоли (размер опухоли, инвазивность, метастазирование). Тотальное гипометилирование генома опухолевой клетки может вызвать несколько эффектов, которые вносят существенный вклад в процессы злокачественной трансформации:

1) приводит к гиперэкспрессии клеточных онкогенов, факторов роста, генов, которые обычно экспрессируются на ранних этапах эмбрионального развития;

2) вызывает транскрипционную активацию мобильных генетических элементов транспозонов, которые могут интегрироваться в гены, регулирующие клеточный цикл и вызывать их инактивацию;

3) вызывает хромосомную нестабильность, которая приводит к потере генов-супрессоров и амплификации онкогенов.

Одновременно с гипометилированием генома происходит аномальное метилирование CpG-островков в промоторных районах генов, участвующих в регуляции клеточного цикла, что приводит к их полной инактивации, а также генов, участвующих в апоптозе, ангиогенезе, дифференцировке, репарации ДНК и др.

Лекция 3. Основы клинической фармакогенетики

Фармакогенетика – наука, изучающая роль генетических факторов в формировании фармакологического ответа организма человека на лекарственные средства (ЛС). Данная отрасль науки возникла на стыке фармакологии и генетики.

Главными причинами фармакогенетических различий, обусловливающих индивидуальную и популяционную вариабельности фармакологического ответа на ЛС, являются:

1. Полиморфизм генов изоферментов цитохрома Р-450, участвующих в первой фазе биотрансформации ЛС.

2. Полиморфизм генов микросомальных и немикросомальных ферментов печени (циклооксигеназ, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и др.).

3. Полиморфизм генов рецепторов для ЛС, приводящий к нарушению их функций, результатом чего является вариабельность фармакологического ответа.

Различные мутации в генах, кодирующих указанные белки, могут приводить к изменению фармакокинетики и факмакодинамики ЛС, в результате чего изменяется ответ организма на ЛС. Такие мутации могут, передаваясь из поколения в поколение, распространяться в популяции. Явление, когда в популяции существуют различные аллельные варианты одного гена, носит название генетический полиморфизм. Гены, для которых известен множественный аллелизм, называются полиморфными маркерами. В случае, если удается найти закономерность между определенным аллельным вариантом такого маркера и каким-либо фенотипическим признаком, говорят об ассоциации полиморфного маркера с данным явлением. Полиморфизм соответствующих генов может быть причиной различий в фармакологическом ответе на ЛС.

Метод выявления и диагностирования таких маркеров называется генотипированием. Методы генотипирования позволяют прогнозировать фармакологический ответ на ЛС, повысить эффективность и безопасность применения ЛС. Следует отметить, что некоторые полиморфные маркеры, являющиеся причиной изменения фармакокинетики и фармакодинамики ЛС, часто ассоциируются с некоторыми заболеваниями (онкология, болезнь Альцгеймера, болезни Паркинсона, атеросклероз и др.), поэтому фармакогенетические исследования способствуют более полному пониманию этиологии и патогенеза этих заболеваний.

Генетические факторы, влияющие на фармакокинетику лекарственных средств

Все такие этапы фармакокинетики ЛС, как всасывание, распределение, метаболизм (биотрансформация), выведение, находятся под контролем соответствующих генов. Таким образом, теоретически, полиморфизм различных генов может влиять на все перечисленные процессы. Однако, как показали исследования, наибольшее клиническое значение имеет полиморфизм генов, контролирующих синтез и работу ферментов метаболизма ЛС, а также транспортных белков-переносчиков ЛС, участвующих в их всасывании и распределении.

Метаболизм (биотрансформация) – это общее понятие, отражающие химические изменения, которым подвергаются ЛС в организме. Результатом метаболизма является, с одной стороны, снижение растворимости в жирах (снижение липофильности) и повышение растворимости в воде (повышение гидрофильности), а с другой – изменение фармакологической активности ЛС. Все реакции метаболизма ЛС обозначаются как фазы метаболизма I и II:

- Реакции I фазы (несинтетические реакции). В процессе этих реакций ЛС переходят в более полярные и водорастворимые (гидрофильные) соединения, чем исходное вещество. Основными реакциями I фазы являются реакции окисления, чаще всего гидроксилирование – присоединение гидроксильного радикала (-OH).
- Реакция II фазы (синтетические реакции). Соединение ЛС или его метаболитов с эндогенными веществами, в результате образуются полярные, хорошо растворимые в воде конъюгаты, легко выводимые почками или с желчью.

Генетический полиморфизм характерен для всех генов, кодирующих ферменты I фазы метаболизма (изоферменты цитохрома Р-450) и ферменты II фазы метаболизма (N-ацетилтрансфераза, тиопурин S-метилтрансфераза, эпиксид гидролаза). Экспрессия мутантных аллелей может приводить к синтезу ферментов с измененной активностью, что может стать причиной изменения скорости метаболизма (замедление или ускорение). В зависимости от скорости метаболизма ЛС в популяции населения выделяют следующие группы:

- Распространенные метаболизаторы, имеющие нормальный ген фермента. К ним принадлежит большинство населения.
- Медленные метаболизаторы – носители мутаций, приводящих к синтезу «дефектного» фермента или отсутствию его синтеза. В результате ферментативная активность снижается или вовсе отсутствует. При этом ЛС накапливаются в организме в высоких концентрациях, вплоть до

токсических. Доза ЛС для таких пациентов должна быть ниже среднетерапевтической.

- Быстрые метаболизаторы – носители мутаций гена, приводящих к синтезу фермента с высокой метаболизирующей активностью. Следствием этого является недостаточная для достижения терапевтического эффекта концентрация ЛС. Для этих пациентов доза ЛС должна быть выше среднетерапевнической.

Существуют различные типы осложнения лекарственной терапии:

1) повышенная чувствительность индивида к лекарству, как это бывает в случаях передозировки лекарств, хотя больному назначена доза, соответствующая его полу и возрасту;

2) парадоксальные реакции на лекарство, включающие совсем другие типы осложнений, чем это следовало бы ожидать, исходя из механизмов действия лекарства;

3) полная толерантность больного к лекарству, несмотря на увеличение дозы.

Генетический полиморфизм бутирилхолинэстеразы (псевдохолинэстеразы) – повышенная чувствительность индивида к лекарству

Физиологической функцией бутирилхолинэстеразы (БХЭ) является гидролиз различных алифатических и ароматических кислот, эфиров холина (в том числе ацетилхолина). БХЭ также катализирует реакцию гидролиза деполяризующегося миорелаксанта суксаметония (дитилин, листенон, сукцинилдихолин), который широко применяется в анестезиологии с целью релаксации скелетной мускулатуры при оперативных вмешательствах.

У большинства людей после введения суксаметония наступает расслабление скелетной мускулатуры, что сопровождается остановкой дыхания (апноэ) в течение 2–3 мин. Небольшая продолжительность действия препарата обусловлена тем, что под влиянием БХЭ он быстро гидролизуется и инактивируется. При повышенной чувствительности к суксаметонию, которая вызвана сниженной активностью БХЭ, паралич скелетной мускулатуры и апноэ длятся несколько часов.

Установлено, что снижение активности фермента обусловлено изменением его аминокислотного состава. Синтез молекулы БХЭ обеспечивается несколькими аллелями структурных генов. Мутация одного или нескольких из них приводит к образованию атипичных молекул фермента, отличающихся от нормального аминокислотного состава.

Наиболее распространенной мутацией, приводящей к синтезу БХЭ со сниженной активностью, является замена в нуклеотидной последовательности в 209-м положении аденилового нуклеотида на гуаниловый. В результате синтезируется фермент, у которого в 70-м положении аспарагинат заменен на глицин. Другой мутацией является вставка в 117-м поло-

жении нуклеотидной последовательности, в результате синтезируется белок, длина которого составляет 22 % от длины нормального фермента.

Дефект наследуется по аутосомно-рецессивному типу. Повышенная чувствительность наблюдается только у гомозигот. Примерно 3–4 % европейцев являются гетерозиготами, а 1 из 3500 человек – гомозиготный по мутантному аллелю. Все они составляют группу риска по продолжительной задержке дыхания при введении препаратов мышечной релаксации.

Другой мутантный аллель обусловливает полное отсутствие активности холинэстеразы. Данный аллель распространен среди эскимосов Аляски.

Генетический полиморфизм ацетилирования лекарственных средств – повышенная чувствительность индивида к лекарству

После внедрения в медицинскую практику для лечения туберкулеза гидразида изоникотиновой кислоты (изониазид, тубазид), было обнаружено, что переносимость этих препаратов больными неодинакова. Одни пациенты переносят препарат хорошо, в то время как у других возникают выраженные побочные реакции – головная боль, головокружение, боли за грудиной, явления полиневрита, бессонница и др.

В основе индивидуальной чувствительности организма к изониазиду лежит различная интенсивность его метаболизма. Основным механизмом его биотрансформации является ацетилирование при участии N-ацетилтрансферазы – фермента, содержащегося в печени.

N-ацетилтрансфераза катализирует реакцию ацетилирования ряда ЛС, в том числе сульфаниламидов, прокаинамида, гидралазина и др. Выделено 2 изофермента N-ацетилтрансферазы: N-ацетилтрансфераза 1 (NAT 1) и N-ацетилтрансфераза 2 (NAT 2). Основным ферментом ацетилирования является NAT 2.

При лечении больных туберкулезом были выявлены «медленные» и «быстрые» ацетиляторы изониазида. У «медленных» ацетиляторов концентрация изониазида в крови была значительно выше, что у «быстрых», у «медленных» период полувыведения препарата составлял 3 ч, в то время как у «быстрых» – 1,5 ч. Также было отмечено, что у «медленных» ацетиляторов в связи с накоплением изониазида чаще наблюдаются полиневриты. Это было связано с тем, что изониазид тормозит переход пиридоксина (витамина B_6) в активный кофермент дипиридоксинфосфат, который необходим для синтеза миелина.

Обнаружено около 15 мутантных аллелей гена NAT 2, все они наследуются по аутосомно-рецессивному типу.

Процентное соотношение между «медленными» и «быстрыми» ацетиляторами среди населения колеблется в широких пределах. «Медленными» являются 10–15 % среди монголоидов, до 50 % среди европеои-

дов. Число «быстрых» в Западной Европе и Индии составляет 50 %, в Японии – 90–95 %.

Генетический полиморфизм метилирования лекарственных средств – повышенная чувствительность индивида к лекарству

Тиопурин-метилтрансфераза (ТРМТ) является ферментом, который катализирует реакцию S-метилирования производных тиопурина – основной путь метаболизма цитостатиков из группы антагонистов пурина: 6-меркаптопурана, 6-тиогуанина, азатиоприна. Отметим, что 6-меркаптопурин широко используется в составе химиотерапии миелобластного и лимфобластного лейкозов, хронического миелолейкоза, лимфосаркомы, саркомы мягких тканей. 6-тиогуанин применяется в основном при острых лейкозах.

Активность ТРМТ имеет значительные различия: у 88,6 % людей высокая активность, у 11,1 % – промежуточная, у 0,3 % активность низкая или вовсе отсутствует. Известно, что у людей с низкой активностью ТРМТ выявляется повышенная чувствительность к 6-меркаптопурину, 6-тиогуанину и азатиоприну, которая проявляется опасным для жизни гематотоксическим (лейкопения, тромбоцитопения, анемия) и гепатотоксическим эффектами. В условиях низкой активности ТРМТ метаболизм 6-меркаптопурина идет оп альтернативному пути – до высокотоксичного соединения 6-тиогуанина нуклеотида (6-TGN). Чем меньше активности ТРМТ, тем больше концентрация 6-TGN в плазме крови и тем более выражены побочные эффекты 6-меркаптопурина. Низкая активность ТРМТ наследуется по аутосомно-рецессивному типу, гомозиготы проявляют низкую активность ТРМТ, гетерозиготы – промежуточную.

Распространенность гомозигот среди европейского населения составляет 3,7 %, среди афроамериканцев – 4,6 %.

Для обеспечения безопасности проводимой химиотерапии перед назначением тиопуринов необходимо определить активность ТРМТ, при этом безопасные дозы для пациентов с низкой активностью ТРМТ должны быть в 10–15 раз ниже среднетерапевтических.

Генетический полиморфизм глюкуронирования лекарственных средств (повышенная чувствительность индивида к лекарству)

Глюкуронирование является важнейшей реакцией II фазы метаболизма лекарственных соединений. Глюкуронирование представляет собой присоединение к субстрату УДФ-глюкуроновой кислоты. Эта реакция катализируется надсемейством ферментов УДФ-глюкуронилтрансферазами.

Ферменты катализируют глюкуронирование большого числа ксенобиотиков, включая ЛС и их метаболиты, пестициды, канцерогены. Глюкуронирование приводит к увеличению полярности химических

соединений, что облегчает их растворимость в воде и элиминацию. УДФ-глюкуронилтрансферазы обнаруживаются у всех позвоночных животных от рыб до человека. Ферменты располагаются в эндоплазматической системе клеток печени, кишечника, легких, головном мозге, обонятельном эпителии, почках, но главным органом, в котором идет глюкуронирование, является печень.

Физиологической функцией УДФ-глюкуронилтрансфераз является глюкуронирование эндогенных соединений. Глюкуронирование билирубина предотвращает накопление токсического свободного билирубина, при этом он выделяется с желчью в виде моно- и диглюкуронидов.

Другой физиологической функцией УДФ-глюкуронилтрансфераз является участие в метаболизме гормонов. Тироксин и трийодтиронин подвергаются глюкуронированию в печени и выводятся в виде глюкуронидов с желчью. Также ферменты участвуют в метаболизме стероидных гормонов, желчных кислот, ретиноидов.

У больных с синдромом Жильбера нарушено глюкуронирование билирубина, синдром представляет собой наследственное заболевание, передающееся по аутосомно-рецессивному типу. Распространенность среди населения – 1–5 %. Причиной развития синдрома являются точечные мутации (замены нуклеотидной последовательности) в гене *UGT1*. При этом образуется УДФ-глюкуронилтрансфераза, активность которой составляет 25–30 % от нормального уровня.

Генетические факторы, влияющие на фармакодинамику лекарственных средств

Причиной изменения факмакодинамики ЛС могут быть мутации генов белков, являющихся фармакологическими мишенями для ЛС (рецепторы, ферменты, ионные каналы и др.).

Недостаточность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (парадоксальные реакции на лекарство)

Дефект этого метаболического пути глюкозы как главного энергетического субстрата клетки обусловлен генетическим полиморфизмом. Причиной изменения фармакодинамики ЛС являются мутации генов ферментов, ответственных за защиту от окисления сульфгидрильных групп белков клеточных мембран под действием ксенобиотиков, в частности гена глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ). Эта аномалия, сцепленная с Х-хромосомой, полностью проявляется у мужчин и гомозиготных женщин.

Г-6-ФДГ играет важную роль в обмене углеводов, в том числе в эритроцитах, где она катализирует окисление глюкозо-6-фосфата в 6-фосфоглюконат. В этой реакции образуется восстановленный никотина-

миддинуклеотидфосфат ($НФДФН_2$). $НФДФН_2$ является важным донором электронов в реакции, в которой окисленный глутатион превращается в восстановленный под действием глутатионредуктазы. Образующийся восстановленный глутатион является активным антиоксидантом и защищает белки клеточных мембран от окисления. В условиях недостаточности Г-6-ФДГ уменьшается образование $НФДФН_2$ возникает дефицит восстановленного глутатиона.

При этом у носителей данной мутации из-за дефицита Г-6-ФДГ возникает гемолиз эритроцитов при применении некоторых ЛС, обладающих окислительными свойствами. У лиц с недостаточностью Г-6-ФДГ гемолиз эритроцитов возникает не только при применении ЛС, но и при употреблении некоторых продуктов питания, в частности конских бобов (Vicia faba), в связи с чем это заболевание часто называют фавизмом.

Токсическими веществами конских бобов являются продукты гидролиза гликозидов (вицин и конвицин), которые обладают выраженным окислительным действием, в 10–20 раз превосходящим таковое аскорбиновой кислоты. Наследование мутаций гена Г-6-ФДГ, обусловливающих ее недостаточность, сцеплено с полом. Подобных мутаций выявлено более 150, однако в целом можно выделить две формы: «негроидную» и «средиземноморскую».

«Негроидная» форма характеризуется нормальной продукцией фермента, но ускоренным его разрушением, поэтому гемолизу подвергаются только «старые» эритроциты (старше 55 дней). При этом острый гемолиз отмечается только при первом применении ЛС и длится несколько дней. При продолжении применения ЛС имеет место лишь хронический слабовыраженный гемолиз эритроцитов.

«Средиземноморская» форма характеризуется наличием дефектной Г-6-ФДГ со сниженной активностью, поэтому гемолизу подвергаются как старые, так и молодые эритроциты. При этой форме отмечается выраженный гемолиз эритроцитов, возникающий при первом применении ЛС и продолжающийся в течение всего периода применения ЛС.

Распространенность недостаточности Г-6-ФДГ варьирует в разных популяциях от 1до 15 % (у 10% афроамериканских мужчин), а в некоторых районах достигает 30–40 % (Азербайджан). В связи с этим следует отметить государственные меры по борьбе с наследственными заболеваниями. Так, в Азербайджане в 60-х годах было запрещено выращивание конских бобов, что привело к резкому снижению частоты заболевания. В европейских популяциях недостаточность Г-6-ФДГ встречается редко.

Люди с недостаточностью фермента Г-6-ФДГ должны исключить из пищевого рациона, наряду с конскими бобами, крыжовник и красную смородину.

Фармакогенетика злокачественной гипертермии (парадоксальные реакции на лекарство)

Злокачественная гипертермия представляет собой заболевание, возникающее при применении местных анестетиков, средств для ингаляционного наркоза, сукцинилхолина. Для злокачественной гипертермии характерен аутосомно-доминантный тип наследования. Симптоматика складывается из лихорадочного синдрома, сопровождающегося нарушением ритма сердца, острой почечной недостаточностью, а также некротическими изменениями в поперечнополосатой мускулатуре.

В основе патогенеза злокачественной гипертермии лежит увеличение концентрации внутриклеточного кальция, которое индуцировано лекарственными средствами. В последнее время выяснилось, что причиной возникновения заболевания является наследование ряда мутантных аллелей генов рианодиновых рецепторов (РР).

Рианодиновые рецепторы (RyR1 и RyR2) расположены в миокарде и скелетной мускулатуре. Они локализованы в саркоплазматическом ретикулуме (СПР) непосредственно под цитоплазматической мембраной. Естественным физиологическим регулятором активности RyR2 является цАМФ-зависимая протеинкиназа. Активация рианодинового рецептора происходит при фосфорилировании этим ферментом, к ингибированию работы рецептора приводит кальмодулин. Активированный рецептор открывает кальциевые каналы СПР. Ионы кальция поступают в цитоплазму клетки, благодаря чему происходит активация актин-миозинового комплекса и мышечное сокращение.

Рианодиновые рецепторы имеют несколько изоформ. При склонности к злокачественной гипертермии, обусловленной дефектом в гене RYR1, РР активируются под воздействием сукцинилхолина или ингаляционного анестетика. При этом происходит неконтролируемое высвобождение ионов кальция (его концентрация в цитоплазме может превышать норму в 8 раз). Внутриклеточный кальций активирует актин-миозиновый комплекс, в результате чего повышается мышечный тонус, длительное сокращение мышц приводит к повышению потребления энергии, увеличению потребления кислорода и образования CO_2 и тепла.

Истощение аэробного пути получения энергии запускает анаэробный гликолиз, который сопровождается накоплением лактата и вызывает метаболический ацидоз. В результате развивается отек мышечной ткани, повреждение мембраны миоцита. Резкие метаболические и электролитные нарушения приводят к угнетению сердечно-сосудистой системы, отеку головного мозга и другим органным расстройствам.

Частота этого расстройства у детей составляет по разным оценкам 1 случай на 3 000–15 000 общих анестезий, а у взрослых пациентов

1 случай на 50 000–100 000 общих анестезий. Предрасположенность к заболеванию передается по аутосомно-доминантному типу наследования

На сегодняшний день выявлено более 40 мутантных аллелей гена RYR1, ответственных за развитие злокачественной гипертермии. Обсуждается вопрос о целесообразности идентификации этих мутаций у всех пациентов, которым предполагается использование местных анестетиков, средств для ингаляционного наркоза, сукцинилхолина.

Витамин-Д-резистентный рахит – толерантность к лекарству

Витамин-Д-резистентный рахит, наиболее распространенная форма гипофосфатемии, с частотой встречаемости около 1 на 20 000–25 000. Имеет Х-сцепленный доминантный тип наследования.

Причиной заболевания являются мутации в гене *PHEX* (Phosphat regulating hormone with homologies to endopeptidases on the X-chromosome). Ген кодирует фосфат-регулирующую эндопептидазу, которая контролирует мембранный транспорт фосфата в почечных канальцах, тонкой кишке, мутация в гене приводит к потере активности фермента. У больных применение витамина Д в стандартных дозах не дает лечебного эффекта.

Заболевание характеризуется нарушением обмена фосфора, вызываемое уменьшением его реабсорбции в почечных канальцах. Это приводит к усилению выведения фосфора с мочой и снижению его содержания в организме при нормальном содержании кальция. В отсутствие фосфора нарушается отложение кальция в костях. Предполагается, что причина заболевания заключается в уменьшении чувствительности канальцев к витамину Д, что вызывает вторичную гиперфункцию паращитовидных желез и увеличенный распад фосфатов.

Клинические симптомы проявляются в возрасте 1–2 лет, когда дети начинают ходить, и характеризуются выраженными рахитическими деформациями костей, Х и О-образными искривлениями конечностей, задержкой физического развития и низким ростом. Зубы появляются позднее и очень рано разрушаются. Изменения в костях конечностей такие же, как при алиментарном рахите. К 15–18-летнему возрасту симптомы болезни уменьшаются и могут совсем исчезнуть, хотя рост больных остается ниже нормального. Для лечения применяют препараты фосфора.

Лекция 4. Генная терапия

Генная терапия – это отрасль молекулярной медицины, основанная на введении в клетку чужеродного генетического материала с целью исправления генных дефектов, придания клеткам функций, прежде им не свойственных, или для предотвращения заболеваний, вызванных генными дефектами.

В роли фармацевтического препарата при генной терапии выступают клонированный ген или искусственно синтезированные молекулы РНК или ДНК. Важнейшей технологической задачей генной инженерии является разработка системы переноса и адресной доставки генетического материала к клеткам-мишеням в организме больного, в которых имеется дефектный ген.

Генная терапия может заниматься исправлением генетических дефектов в соматических клетках и в гаметах или на самых ранних стадиях развития зиготы.

В настоящее время в качестве мишеней для генетической трансформации разрешено использовать только соматические клетки. Перенос генов в соматические клетки называется соматической генной терапией. Существуют четко установленные этические принципы применения генной терапии. Экспериментальное лечение начинают только после тщательного анализа на нескольких уровнях, за испытаниями проводится постоянный контроль. При этом воздействие осуществляется только на конкретного индивида и происходит с разрешения и согласия больного.

Два других потенциальных подхода в генной терапии пока не разрешены, в основном из-за этических проблем. Одна из них – **терапия клеток зародышевых линий**, при которой мишенями служат клетки, дающие начало гаметам, или зрелые гаметы – яйцеклетки и сперматозоиды. При этом подходе корректирующая ДНК включается во все клетки тела индивида, в том числе и в собственные гаметы. Это означает, что генная терапия может оказать воздействие и на потомков данного индивида, что не этично, поскольку мы не имеем права принимать подобные решения за будущие поколения.

Второй, также не разрешенный подход генной терапии, – ***улучшающая генная терапия***. Благодаря этому подходу могут быть улучшены качества человека по какому-нибудь определенному признаку, к примеру, улучшение спортивных результатов, умственного потенциала.

Однако дискуссии по этим вопросам продолжаются и будут усиливаться по мере роста возможностей генной терапии. Исход этих дискуссий может повлиять на судьбу не только отдельных индивидов, но и всего человечества.

Соматическая генная терапия

В настоящее время клетками человека, которые можно использовать для переноса генов, являются клетки костного мозга, периферической крови и фибробласты. Только эти клетки можно извлечь из организма, вырастить в культуре, перенести в них нужный ген и снова ввести пациенту.

Гены в клетки человека могут вводиться с помощью нескольких методов:

- разработаны **векторные системы доставки** терапевтических генов. Они сконструированы на основе ретровирусов, аденовирусов, вируса простого герпеса;
- существуют **химические методы** для облегчения проникновения генов через клеточные мембраны (с использованием фосфата кальция);
- методы **слияния клеток** с искусственными липидными пузырьками (липосомами), содержащими клонированные последовательности ДНК.

В настоящее время наиболее перспективным способом доставки генетического материала является перенос с использованием ретровирусов. Одна из первых разработанных и часто используемых систем для переноса генетической информации – ретровирусный вектор на основе вирусного мышиного лейкоза Молони.

Векторная система переноса генетической информации

Геном ретровируса содержит пси-последовательность, необходимую для упаковки вириона, а также гены, ответственные за размножение вируса – (gag) (pol), (env). По краям ген ограничен последовательностями длинных концевых повторов (LTR), которые содержат промотор и инициатор и контролируют транскрипцию и интеграцию вектора в геном хозяина.

В векторе SAX, созданном из вируса Молони, удаляется кластер из трех генов с сохранением последовательностей LTR и пси-, а также встраивается бактериальный ген устойчивости к неомицину (neo), служащий селективным маркером. В вектор встраивается клонированный человеческий ген аденозиндезаминазы человека (АДА), с прикрепленным промотором SV40. Конструкция SAX является типичным образцом ретровирусного вектора, используемого в генной терапии человека.

После упаковки в вирусную белковую оболочку (за это отвечает последовательность пси) рекомбинантный вирус может заражать клетки, но из-за утраты вирусных генов он неспособен размножаться. Оказавшись внутри клетки, рекомбинантный вирус с вставкой гена человека перемещается в ядро и включается в хромосому, становясь частью генома клетки.

Лечение комбинированного иммунодефицита

Первые шаги в использовании генной терапии были сделаны в 1990 г. при лечении 4-летнего ребенка, страдающего наследственным заболеванием – тяжелым комбинированным иммунодефицитом, обусловленным дефицитом фермента аденозиндезаминазы. У страдающих этой болезнью практически не функционирует иммунная система и они погибают в раннем детском возрасте от неопасных для здоровых людей инфекций. Болезнь может вызываться мутациями нескольких генов, одна из которых – мутация гена, кодирующего фермент аденозиндезаминазу.

При этом заболевании в крови пациентов накаливается в больших концентрациях 2-дезоксиаденозин, оказывающий токсическое действие на Т и В лимфоциты. Введение в организм недостающего фермента приводит к заметному улучшению состояния больных, но, как правило, только на непродолжительное время.

Метод генной терапии, разработанный в Национальном институте здоровья (США), заключался в назначении больным собственных (аутологичных) лимфоцитов, с введенным в них нормальным ADA-геном.

Осуществление этого плана потребовало выполнение следующих процедур:

- изоляции клеток из крови пациента,
- активации и стимуляции роста Т-лимфоцитов в культуре,
- введение в Т-клетки ретровирусного вектора, несущего нормальный ADA-ген и маркерный ген neo,
- отбор трансдуцированных клеток на селективной среде (содержащей неомицин),
- внутривенная реинфузия модифицированных клеток пациенту.

На протяжении 10 мес. 4-летней пациентке было сделано 8 вливаний трансдуцированных Т-лимфоцитов. Уже после первого цикла число Т-лимфоцитов нормализовалось, концентрация ADA в крови увеличилось с 1 до 25 % от нормы, резко улучшились основные иммунологические характеристики. Вопреки многим прогнозам, на протяжении более чем 6 мес. после прекращения вливаний трансдуцированных лимфоцитов, в кровотоке пациентки устойчиво сохранялось высокое число активных лимфоцитов, что позволило в дальнейшем снизить количество вводимых клеток и значительно увеличить промежутки между процедурами.

Спустя 3 мес. после первых клинических испытаний, было начато лечение ADA-дефицита у второй пациентки 9 лет. После 11 вливаний модифицированных Т-клеток состояние девочки значительно улучшилось и отмечалась полная нормализация соответствующих биохимиче-

ских и иммунологических показателей. Таким образом, при лечении обоих пациенток был достигнут очевидный клинический эффект.

Успех первых клинических испытаний явился мощным стимулом для развития новых генотерапевтических методов применительно к другим наследственным заболеваниям.

Экспериментально было установлено, что генотерапевтические методы лечения применимы для большого списка заболеваний: иммунодефицит, семейная гиперхолестеринемия, гемофилия А и В, сфинголипидоз, синдром Гурлера, эмфизема легких, муковисцедоз, фенилкетонурия, мышечная дистрофия Дюшенна, талассемия, серповидноклеточная анемия, синдром Леша–Нихана, болезни Альцгеймера, Паркинсона.

Наряду с клетками крови, в генотерапии применяют мышечные клетки скелетных мышц (миобласты, миофибриллы). В них отсутствует эндонуклеазная активность, и благодаря этому возможен перенос генов путем прямой инъекции экзогенной ДНК. Введенная в мышцы ДНК экспрессируется, не встраиваясь в ДНК мышечных клеток и белковые продукты гена в течение длительного времени могут поступать в кровь. При помощи мышечных клеток возможна генотерапия гемофилии А и В, диабета, врожденного дефицита гормона роста и болезнь Паркинсона.

Описанные примеры предполагают доставку терапевтического гена непосредственно в клетки определенной ткани пациента – клетки крови, фибробласты, мышечные клетки. Данная категория генной терапии соматических клеток называется «генной терапией *in vivo*».

Генная терапия ex vivo

Объектом для генно-инженерных манипуляций являются полипотентные стволовые клетки. В их ДНК вводят чужеродные гены, затем эти клетки вводят пациенту. В данном случае появится не только продукт гена, который у пациента дефектный, но может произойти замещение дефектного типа клеток. В экспериментах на животных показано, что трансформированные таким образом клетки могут сохраняться в кровотоке на протяжении более двух лет после пересадки клеток костного мозга.

Примером генной терапии ex vivo являются эксперименты по лечению тяжелого наследственного заболевания синдрома Леша–Нихана, Х-сцепленной недостаточности фермента гипоксантин-гуанин – фосфорибозилтрансферазы (ГФРТ).

Характерными симптомами болезни являются гиперрефлексия, мышечный гипертонус, склонность к самоповреждениям.

У мышей с дефектом гена, кодирующего фермент, извлекали из костного мозга стволовые клетки, культивировали в присутствии клеток, содержащих ретровирус с мышиным геном ГФРТ и бактериальный ген neo в качестве селективного маркера.

Другой мыши, получившей летальную дозу рентгеновского облучения, в результате чего собственные кроветворные клетки гибнут, ввели культивированные клетки со встроенным геном фермента ГФРТ. Введенные костномозговые клетки восстанавливают жизнедеятельность летально облученной мыши. При исследовании ДНК этих животных обнаружилось, что имплантированные клетки прижились, геном функционирует и в организме содержится достаточное количество фермента ГФРТ.

Проведенный эксперимент свидетельствует о благоприятном прогнозе на лечение данной тяжелой болезни. Применение генной терапии при синдроме Леша–Нихана – это единственно возможный способ нормализации содержания в организме фермента ГФРТ и улучшения состояния больных.

Трансплантацию костного мозга применяют для лечения пациентов с деффектом фермента аденозинтрансферразы.

Ограничения использования ретровирусов

Несмотря на то, что ретровирусные векторы широко используются в генной терапии, они имеют ряд недостатков:

1. Включение вирусного генома с чужеродным ДНК в геном клетки-хозяина происходит только в том случае, когда клетка активно делится. Из-за этого во многих дифференцированных типах тканей человека мало подходящих клеток-мишеней.

2. Большинство вирусов могут вызвать иммунный ответ хозяина.

3. Включение вирусного генома в хромосому хозяина может инактивировать жизненно важный ген или вызвать его мутацию.

4. Геном ретровируса способен переносить включенные в него последовательности длиной не более 8 тыс. п. н. Размер многих генов человека значительно больше.

5. Ретровирусы могут привести к злокачественной трансформации клеток хозяина.

Следует отметить, что на данном этапе ведется поиск новых средств доставки гена.

В настоящее сформированы основные группы заболеваний, в отношении которых активно развивается генная терапия и проводятся клинические испытания. Это опухолевые заболевания (более 60 % проводимых клинических испытаний), моногенные наследственные заболевания (12 %), патология сердечно-сосудистой системы (8 %). Около 6 % исследований проводятся в области инфекционных болезней, в том числе СПИДа, гепатита В, создания нового поколения вакцин.

Генная терапия при лечении инфекционных заболеваний

В настоящее время генная терапия рассматривается как альтернативный способ лечения широкого круга инфекционных заболеваний, часто не поддающихся стандартному клиническому лечению. В данном случае генная терапия предусматривает введение в клетки хозяина генетического материала, созданного с целью специфически блокировать экспрессию генов, ответственных за размножение бактерий или вирусов, или нейтрализовать действие продуктов этих генов, что приведет к подавлению размножения инфекционного агента. В дополнение к этому внутриклеточному действию генная терапия может быть использована для ограничения распространения инфекции на внеклеточном уровне. Данная задача может быть решена путем секреции в организме белков-ингибиторов или стимуляторов специфического иммунного ответа.

В лечении инфекционных заболеваний, вызванных бактериальными агентами, использование генно-терапевтических методов позволяет создавать новые вакцины для иммунизации, применение которых обеспечит высокий уровень иммунной защиты с минимальным риском побочных эффектов.

Существует ряд ключевых факторов, определяющих эффективность генной терапии при инфекционных заболеваниях: селекция соответствующих клеток и тканей-мишеней для генной терапии, создание специфических средств доставки, оптимизация экспрессии, регуляции и стабильность продуктов генной терапии.

Антисмысловые нуклеотидные последовательности как инструмент регуляции экспрессии генов

Наиболее многочисленные исследования были проведены в отношении вируса иммунодефицита человека, хотя эти же приемы могут быть использованы и в отношении других инфекционных агентов.

ВИЧ-вирус является возбудителем синдрома приобретенного иммунодефицита человека. Геном ВИЧ состоит из двух однонитевых молекул РНК, каждая из которых содержит 9200 нуклеотидных оснований. Вирус содержит двухслойный капсид и окружен белок содержащей мембраной. Для выбора стратегии лечения этого заболевания следует учитывать особенности протекания его жизненного цикла.

При инфекции мембрана вируса сливается с цитоплазматической мембраной клетки-хозяина, вирус проникает в цитоплазму,в которой с помощью обратной транскриптазы из РНК транскрибируется двунитевая ДНК, которая интегрируется в геном хозяина, где долгое время находится в неактивном состоянии. При активации происходит транскрипция фрагмента вирусной ДНК, сборка вирусных частиц, которые лизируют

клетку хозяина и выходят в межклеточное пространство для инфицирования новых клеток.

Теоретически, жизненный цикл вируса может быть прерван на любой стадии развития в результате блокирования синтеза или ингибирования активности одного или нескольких ключевых белков или элементов, которые регулируют стадии жизненного цикла. Этого эффекта позволяют достичь различные подходы генной терапии.

Антисмысловые олигонуклеотиды (антисенсы). Антисенсы – это олигонуклеотиды, которые могут комплементарно связываться с ДНК или РНК и блокировать определенные участки этих молекул. Антисенсы синтезируют искусственным путем в соответствии со специфическими областями генома инфекционного агента.

Они могут связываться с матричной цепью кодирующего гена, образуя тройную спираль и предотвращать транскрипцию. Если олигонуклеотид связывается с ДНК генов, кодирующих ферменты репликации (ДНК-полимераза, хеликаза, топоизомераза), происходит блокирование репликации. При связывании с участками матричной РНК, они могут блокировать трансляцию. При этом образуется двухспиральная структура, которая не способна транслироваться на рибосомах, в результате чего происходит блокирование продукции специфического белка.

Алгоритм создания новых препаратов на основе антисмысловых олигонуклеотидов принципиально отличается от традиционного подхода к производству лекарственных препаратов. К настоящему моменту известна нуклеотидная последовательность большинства генов инфекционных агентов и генов человека, вовлеченных в соматические опухолевые заболевания. В связи с этим при создании лекарственного препарата на основе антисмыслового нуклеотида в первую очередь выдвигается требование выбора гена-мишени и клетки-мишени.

Для определенной болезни должен быть выбран конкретный участок РНК в качестве оптимальной мишени для генной терапии. В виде мишени можно использовать вирусы, поскольку их нуклеотидная последовательность, как правило, не имеет гомологичных участков в геноме человека, поэтому можно уменьшить вероятность неспецифичного влияния антисенса. Практически разработана технология эффективной доставки антисенса в высоких концентрациях для папилломовируса человека, вируса простого герпеса, цитомегаловируса, ВИЧ и других инфекционных агентов. В качестве мишени используется ген репликации вирусной оболочки (Е2-ген папилломавируса), ранние гены (цитомегаловирус), гены белков оболочки вируса (gag-ген ВИЧ).

Начальным этапом оценки терапевтического действия антисенсов являются экспериментальные исследования *in vitro*. На культурах клеток исследуют эффективность проникновения антисенса через клеточные

мембраны, внутриклеточную стабильность соединения и антисенс-зависимые биологические эффекты, а также цитотоксичность и наличие антисенс-независимых эффектов.

Изучение свойств олигонуклеотидов *in vivo* – заключительная стадия создания нового препарата-антисенса. Если молекулы антисенса обнаруживают специфическую активность *in vivo* с высокой терапевтической эффективностью, препарат переходит в 1 фазу клинических исследований в соответствии с международными стандартами.

Антисмысловые олигонуклеотиды в активных концентрациях призваны воздействовать на соответствующую клетку с целью уменьшения экспрессии гена-мишени. Терапевтическое отношение между эффективно действующей и токсической дозами должно быть установлено как *in vivo,* так и *in vitro*. Несмотря на высокую специфичность в отношении гена-мишени, антисенсы могут неспецифично взаимодействовать с различными компонентами клетки. Попадая в кровяное русло, они также способны связываться с альбумином сыворотки крови, активировать систему комплемента и ингибировать процессы коагуляции. Проникая в клетку, антисенсы могут разрушать мембрану или неспецифически связываться с клеточными рецепторами, запуская сигнальные реакции, а также взаимодействовать с цитоплазматическими и ядерными компонентами. Предполагается, что «голые» молекулы олигонуклеотидов поглощаются клеткой путем эндоцитоза, при этом в клетке включается эндосомально-лизосомальный путь. Необходимо снизить цитотоксичность, сохраняя при этом стабильность и эффективность лечения. Изучение распределения антисенсов в организме показало, что они присутствуют в большинстве органов, максимально накапливаются в печени, почках и селезенке, не проникая через гематоэнцефалический барьер.

Токсичность олигонуклеотидов, в том числе побочные эффекты их введения, изучались в доклинических и клинических исследованиях. Было показано, что при всем разнообразии и специфичности действия они оказывают неспецифическое токсическое действие *in vivo* в дозах, близких к использованию в терапевтических целях.

Средства доставки антисенса в клетку-мишень. При разработке антисенса в экспериментальных исследованиях первоначально изучаются свойства «голого» препарата, поступающего в клетки путем эндоцитоза. При использовании аутотрансплантантов (клеток крови или костного мозга, взятых *ex vivo*), генетически модифицированных и вводимых обратно больному, не требуется каких-либо дополнительных приемов введения, помимо гемотрансфузии. Однако при необходимости доставки генетического материала в другие ткани и органы метод простой прямой инъекции препарата в ткани малоэффективен. В связи с этим разрабатываются как

физические, так и «вирусные» средства доставки антисенсов, в частности использование катионных липидов и липосомных технологий.

Кроме способности антисмысловых олигонуклеотидов комплементарно взаимодействовать с РНК или ДНК-мишенями, некоторые из них обладают каталитическими свойствами, которые могут быть использованы при разработке лекарственных препаратов.

Рибозимы: механизм действия и применение в лечении вирусных заболеваний

Рибозимы – это антисмысловые фрагменты РНК, обладающие каталитической активностью, благодаря чему они не только специфически взаимодействуют с мишенью, но и гидролизуют ее, за счет чего их эффективность увеличивается в два раза по сравнению с антисенсами.

Рибозимы являются группой каталитических веществ нуклеотидной природы. В клетке рибозимы входят в состав сплайсом – частиц, представляющих собой комплекс snRNK (small nuclear ribonucleic particles – малые ядерные рибонуклеопротеидные частицы) и hnPHK (heteroheneous nuclear PNK – гетерогенная ядерная РНК). Рибозим имеет в своем составе участок связывания, комплементарный определенной последовательности РНК, и каталитический домен. Рибозимы способны ингибировать инфекционные агенты аналогично действию антисенсов, но при этом имеют большую специфичность. Их небольшие размеры позволяют одновременно доставлять несколько рибозимов при помощи одного вектора. Большим преимуществом рибозимов является возможность их повторного использования для инактивации большого количества молекул-мишеней. Благодаря каталитическим свойствам рибозимы способны к высокоэффективному ингибированию экспрессии генов даже при низкой концентрации.

Препятствием для использования рибозимов является их чувствительность к действию РНКаз, поэтому алгоритм разработки рибозимов аналогичен принципам создания антисенсов, однако требуется дополнительный этап, обеспечивающий стабилизацию и устойчивость к действию ферментных систем *in vivo*.

Использование рибозимов в терапии ВИЧ также прошло стадию доклинических испытаний. На культуре периферических лимфоцитов показано ингибирование экспрессии генов вируса и инактивация вирусной РНК, внедренной в геном хозяина. Возможность ингибирования транскрипции РНК вируса показана и при папилломовирусной инфекции.

Определенные ограничения в использовании рибозимов возникают в связи с высокой частотой мутаций в процессе репликации вируса. Лю-

бое изменение приводит к разрушению связи мишени и рибозима и снижению терапевтического эффекта.

Генные технологии в иммунотерапии. ДНК-вакцины

Иммунизация организма живыми или убитыми вакцинами может быть в ряде случаев неэффективна или опасна для здоровья пациента. При иммунизации живыми вакцинами возможно сохранение жизнеспособности штамма микроорганизмов. При определенных условиях (ослаблении защитных сил хозяина) бактерии могут начать размножаться, вернется их вирулентность, что вызовет заболевание.

В связи с этим особое значение приобретают новые методы иммунизации, которые приводят к быстрому достижению высокого уровня защиты, его поддержанию длительное время, видоспецифичности иммунного ответа, а также минимальному побочному эффекту, отсутствию циркулирующего инфекционного агента.

ДНК вакцина представляет собой чистую ДНК, кодирующую нуклеопротеин вируса или бактерии и заключенную в плазмиду. Вакцинация проводится при помощи внутримышечной инъекции, при этом плазмида существует в организме в течение всей жизни.

Эффективность ДНК-вакцинации была показана на млекопитающих, инфицированных плазмидами вирусов, бактерий и паразитических патогенов. При этом способе иммунизации активируется как клеточный, так и гуморальный иммунитет.

ДНК-вакцины могут использоваться также в противоопухолевой иммунотерапии. Показано, что инъекция плазмидной ДНК, кодирующей противоопухолевые антигены, защищает организм мышей от введения летальной дозы опухолевых клеток.

К преимуществам ДНК-иммунизации, по сравнению с иммунизацией живыми или убитыми вакцинами, относится легкость производства, приготовления и доставки готовых лекарственных форм.

Недостатком метода является неконтролируемое случайное внедрение плазмид в клетки организма, так что сложно предвидеть возможные побочные эффекты и индивидуальные реакции организма.

Генные вакцины могут быть использованы при ВИЧ, для лечения заболеваний, вызванных вирусом Эпштейна–Барр и вирусом гепатита С, в профилактике туберкулеза.

Тканеспецифическая генотерапия. Суицидные гены

Для лечения заболеваний, имеющих несистемный локализованный характер, разрабатываются методы генной терапии, в основе которых заложена способность некоторых вирусов к выраженному тканевому

тропизму. В частности, вирус герпеса избирательно приникает в нервные клетки и способен к многолетнему латентному существованию в них.

К числу заболеваний нервной системы, в отношении которых представляется перспективным использование генной терапии, относятся нейродегенеративные заболевания (болезнь Паркинсона, болезнь Гентингтона), врожденные патологии, связанные с нарушением метаболизма (мукополисахаридоз VII типа), неоплазии (злокачественная глиома).

Помимо ингибирования репликации вируса, защита организма возможна также путем избирательного уничтожения инфицированных клеток за счет включения суицидных генов, которые прямо или опосредованно вызывают гибель клетки при ее экспрессии. Суицидные гены создаются с использованием генно-инженерных технологий. Они кодируют токсические белки, уничтожающие клетки только в том случае, если эти клетки инфицированы патогеном.

Примером суицидной генотерапии является инфицирование клеток вирусом простого герпеса. В основе этой технологии лежит различная чувствительность препарата ацикловир в отношении инфицированных и неинфицированных вирусом клеток. Ацикловир проникает в нормальные клетки, не проявляя по отношению к ним никакой токсичности. Клетка, инфицированная вирусом герпеса, содержит очень высокий уровень тимидин-киназы, так как ген, кодирующий этот фермент, находится в геноме вируса и очень активно экспрессируется при его репликации.

Именно поэтому ацикловир, попадая в инфицированную клетку, мгновенно фосфорилируется тимидин-киназой и ингибирует синтез не только вирусной ДНК, но и ДНК инфицированной клетки, приводя к ее гибели. Таким образом, любая клетка, содержащая ген тимидин-киназы, будет обладать повышенной чувствительностью к действию ацикловира. К достоинствам этого метода относится возможность избирательного уничтожения инфицированных клеток с минимальным повреждением здоровых.

Лекция 5. Патогенетическая роль повторяющихся последовательностей генома человека

Геном человека менее чем на 5 % состоит из ДНК, кодирующей белки. Остальные 95 % реплицируются, но в большинстве своем не транскрибируются. Исключение составляют в основном регуляторные и интронные участки генов и гены нетранслируемых РНК. Кодирующая ДНК далеко не вся представлена уникальными последовательностями. Большая часть генома представлена последовательностями, повторенными по крайней мере дважды (две аллельные копии на гомологичных хромосомах отцовского и материнского происхождения). В то же время существует множество неаллельных кодирующих высокогомологичных последовательностей ДНК, повторяющихся многократно. Такие повторы представлены мультигенными семействами, кластерами генов, псевдогенами и другими повторяющимися кодирующими последовательностями ДНК.

Геном человека, как геномы других высших эукариот, содержат огромное количество некодирующих повторяющихся последовательностей, которые, как и мультигенные семейства, могут быть рассеяны по геному или объединены в тандемные кластеры. Подавляющее большинство рассеянных генетических элементов составляют мобильные генетические элементы генома, или транспозоны и ретротранспозоны.

Кодирующие тринуклеотидные повторы и болезни экспансии

Экспансия повторяющихся последовательностей – новый класс патогенных мутаций у человек, впервые рассмотренный в 1991 г. Экспансия микросателлитных повторов, кодирующих гомополиаминокислотные тракты, характерна для ряда нейродегенеративных заболеваний и синдромов множественных врожденных пороков развития. Гомополиаминокислотный тракт представляет собой последовательность из пяти и более идентичных аминокислотных остатков, поскольку именно такая длина повтора статистически значима для усредненного белка длиной 400 аминокислот.

Болезни экспансии полиглутаминовых повторов. Болезнь Гентингтона

Экспансия CAG-повторов, расположенных в кодирующих областях генов человека и кодирующих полиглутаминовые повторы, отмечена при девяти нейродегенеративных заболеваниях – хорее Гентингтона, спинобульбарной мышечной атрофии, дентато-рубро-паллидо-льюисовой атрофии и нескольких типах спиноцеребеллярных атаксий.

Несмотря на полное отсутствие гомологии между белками, содержащими полиглутаминовые повторы, болезни экспансии кодирующих CAG-повторов обладают несколькими общими чертами и, по-видимому, объединены общими механизмами патогенеза. Для этих болезней характерна прогрессивная дисфункция нейронов, развивающаяся обычно в среднем возрасте и приводящая к выраженной дегенерации нервных клеток. Патогенез связан с приобретением белками, содержащими увеличенные полиглутаминовые повторы, новых функций. Сами по себе протяженные полиглутаминовые молекулы в чистом виде обладают высокой цитотоксичностью, чем и определяют схожесть эффектов мутантных белков. Специфическое, характерное для конкретного заболевания, воздействие на определенные группы нейронов определяется аминокислотным окружением полиглутаминовых повторов в пределах определенных белковых молекул. Цитотоксичность протяженных полиглутаминовых повторов обеспечивается их агрегацией между собой и с другими белками.

Механизм формирования белковых агрегатов представляется следующим образом. Экспансия глутаминового повтора приводит к изменению пространственной организации белковой молекулы, вследствие чего эта молекула с токсическими свойствами приобретает устойчивость к деградации. Белковые молекулы с измененной пространственной организацией и увеличенным временем полураспада вступают во взаимодействие с другими белками, индуцируя селективную дегенерацию клеток. Для большинства болезней характерно преимущественно внутриядерное накопление белковых агрегатов.

Проникающие в ядро белковые молекулы, содержащие протяженные полиглутаминовые повторы, могут изменять экспрессию генов путем аномального взаимодействия с регуляторами транскрипции. Примером подобного взаимодействия служит белок гентингтин. Нормальные молекулы белка гентингтина не взаимодействуют с репрессором транскрипции N-CoR (nuclear receptor corepressor), а то время как молекулы с экспансией полиглутаминового повтора связывают N-CoR, нарушая нормальную экспрессию генов. В белковых агрегатах у больных хореей Гентингтона обнаружено присутствие ряда транскрипционных факторов, что свидетельствует о серьезных повреждениях транскрипционного аппарата клетки вследствие экспансии полиглутаминовых повторов.

Особая роль патогенезе болезней экспансии полиглутаминовых повторов отводится каспазам – цистеиновым протеазам, участвующим в процессах апоптоза. Прежде чем попасть в ядро клетки, белки, содержащие полиглутаминовые повторы, проходят стадию протеолитического расщепления. Протеолиз молекул гентингтина с экспансией по-

лиглутаминовых повторов осуществляют каспазы, косвенно инициируя процесс апоптоза нейронов.

Болезни экспансии полиглутаминовых повторов имеют аутосомно-доминантный тип наследования, поэтому для фенотипического проявления болезни достаточно мутации в одном аллеле гена.

Болезнь Гентингтона характеризуется прогрессирующими моторными повреждениями, снижением умственных способностей, эмоциональной нестабильностью. Симптомы развиваются в зрелом возрасте.

Для болезни характерно поражение передних отделов и коры головного мозга, потеря нейронов, особенно в базальных ганглиях. Нервные клетки погибают в течение нескольких десятков лет, при этом усиливаются нарушения в интеллектуальной и эмоциональной сферах, судороги и неконтролируемые движения, затем наступает смерть.

Тандемные некодирующие повторы

Некодирующие тандемные повторы, в зависимости от длины коровой повторяющейся единицы, делятся на микросателлиты (1–13 п. н.), минисателлиты (до 64 п. н.), сателлиты (до 171 п. н.) и мегасателлиты (несколько тысяч п. н.). Некоторые классы перечисленных повторов выполняют жизненно важные функции в геноме. С точки зрения генетической патологии человека, наиболее известны мутации микросателлитных последовательностей ДНК, приводящие к целому классу наследственных болезней, объединенных общим названием «болезни экспансии».

Болезни экспансии некодирующих коротких тандемных повторов

Болезни экспансии имеют общие свойства:

1) мутантные повторы проявляют мейотическую и митотическую нестабильность, в ряду поколений наблюдается увеличение числа повторов;

2) обнаружена корреляция между длиной повторов и возрастом начала заболевания и выраженностью клинической картины. Такое явление получило название антиципации;

3) риск заболевания зависит от родительского происхождения аллеля.

Молекулярные механизмы патогенеза болезней экспансии зависят от состава и числа нуклеотидов, образующих повторяющиеся единицы, от их расположения относительно кодирующих участков генома. В связи с этим выделяют болезни экспансии кодирующих и некодирующих повторов. Первую группу составляют исключительно болезни экспансии тринуклеотидных повторов, поскольку составляющие их единицы представляют собой кодоны и изменение их числа не приводит к сдвигу рамки считывания.

Болезни экспансии некодирующих повторов обусловлены значительным увеличением длины повторяющихся последовательностей и сопровождаются множественной дисфункцией или дегенерацией различных тканей. Клинические проявления каждого заболевания различны, возможно, вследствие выраженной соматической гетерогенности мутаций. Степень экспансии, сопровождающаяся клиническими проявлениями заболевания, называется полной мутацией, а промежуточные размеры повторов обозначают термином «премутация».

Несмотря на ряд общих свойств, некодирующие повторы, экспансия которых приводит к болезням, различаются по нуклеотидному составу повторяющихся единиц, расположению относительно кодирующих и регуляторных элементов генов, что обусловливает уникальность механизмов патогенеза каждого заболевания.

Синдром Мартина–Белл (синдром ломкой Х-хромосомы, FRAXA)

Синдром Мартина–Белл (СМБ) – наиболее распространенная наследственная форма умственной отсталости с частотой 1:4000 мужчин и 1:8000 женщин. Клиническая картина заболевания может включать макроорхизм, некоторые признаки черепно-лицевого дисморфизма, повышенную эластичность соединительной ткани. Большинство пациентов социально адаптированы и способны выполнять несложную физическую работу.

Причиной заболевания является экспансия повтора CGG, расположенного в 5'-нетранслируемой области гена *FMR1* (fragile X mental retardation gene).

У нормальных индивидов длина этого повтора варьирует от 2 до 54 триплетов. Увеличение длины повтора в пределах от 52 до 200 триплетов (премутация) не сопровождается экспрессией патологического фенотипа. Дальнейшая экспансия (свыше 200 копий) сопровождается клиническими проявлениями СМБ и представляет собой полную мутацию. Индивиды, несущие 6–54 повтора передают их своим потомкам, как и носители из группы риска, то есть имеющие 55–200 повторов, что увеличивает численность повторов у потомков. Известно, что увеличение повторов свыше 200 у больного ребенка происходит при передаче мутантного гена от матери-носительницы, но не от отца.

Культивирование лимфоцитов больных с полной мутацией на фолатдефицитной среде приводит к экспрессии на Х-хромосоме в области расположения тринуклеотидного повтора ломкого участка *FRAXA*.

Полные мутации, как правило, ассоциированы с аномальным метилированием промоторной области гена *FMR1*. Гиперметилирование промотора приводит к подавлению транскрипции *FMR1*, что выражается в отсутствии его мРНК и белка FMRP (fragile X mental retardation protein).

FMRP представляет собой РНК-связывающий белок, циркулирующий в клетке между ядром и цитоплазмой. В цитоплазме FMRP формирует мессенджерные рибонуклеопротеиновые комплексы, связывающиеся с рибосомами. Наибольшая экспрессия *FMR1* отмечена в тканях мозга. Вероятно, в нейронах FMRP определяет внутриклеточное расположение и регулирует трансляцию определенных мРНК-мишеней. Не исключено, что причиной умственной отсталости при СМБ может быть нарушение синтеза белков в ходе установления и функционирования синаптических контактов.

Миотоническая дистрофия, тип 1 (МД1)

Миотоническая дистрофия – аутосомно-доминантное мультисистемное заболевание с вариабельными клиническими проявлениями и выраженной антиципацией. У больных МД наблюдаются многообразные и, на первый взгляд, абсолютно не связанные друг с другом симптомы – миотония, мышечная дистрофия, нарушение сердечной проводимости, катаракта, эндокринные расстройства. Врожденная форма может проявляться множественными пороками развития, гипотонией, респираторным дистрессом и умственной отсталостью. Мышечные судороги особенно выражены в руках, челюстях, языке. Миотония и мышечная слабость сочетаются с нарушением речи и глотания.

Миотоническая дистрофия характеризуется варьирующим началом заболевания – от пренатального периода до 50–60 лет. В наиболее тяжелых случаях заболевание развивается сразу после рождения и вскоре кончается смертью. Если болезнь проявляется в возрасте 20–30 лет, смерть наступает в 50–60 лет как следствие пневмонии, сердечных осложнений.

Частота возникновения заболевания – 1:7 500–10 000.

Тяжесть заболевания связана со временем появления первых симптомов – чем раньше они появляются, тем тяжелее притекает болезнь. Как правило, у ребенка заболевание начинается в более раннем возрасте, чем у его больного родителя.

МД1 связана с экспансией повтора CTG, расположенного одновременно в 3'-нетранслируемой области гена протеинкиназы мышечной дистрофии *DMPK* и в промоторной области гена *SIX5*, на хромосоме 19q13.

Патофизиология заболевания исключительно сложна и рассматривается как комплекс молекулярных дефектов, имеющих различные проявления в разных тканях организма в процессе его развития:

1. Экспансия повтора CTG может косвенно воздействовать на уровень белка внутри клетки, нарушая процессы транскрипции гена, процессинга мРНК и трансляции. Известно, что мРНК, содержащая протяжен-

ные повтор CTG, накапливается внутри ядра, не попадая в цитоплазму, где должна происходить трансляция белка. Результатом изменения внутриклеточной концентрации белка DMPK должно стать нарушение фосфорилирования субстратов этого фермента.

2. У гена *DMPK* обнаружено два фланкирующих гена. Экспансия повтора CTG в гене *DMPK* может влиять на структуру хроматина, изменяя экспрессию ближайших генов: *DMHP*, в пределах промоторной области которого расположен повтор CTG, и *DMWD*, расположенного проксимальнее *DMPK*, в непосредственной близости от него. Изменение функций белковых продуктов этих генов могло стать причиной некоторых фенотипических проявлений МД.

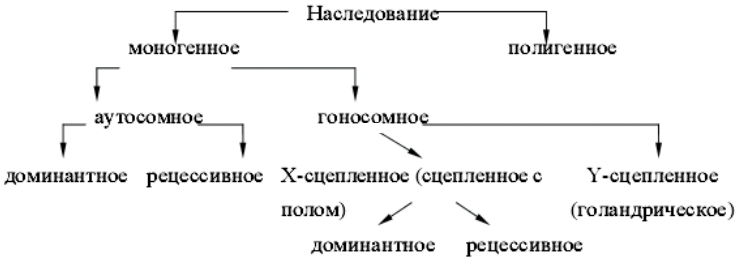
3. Приобретение транскриптом, содержащим протяженный тракт CTG, новой функции. Протяженный повтор CTG блокирует РНК-связывающие белки и нарушает их нормальную функцию в регуляции процессинга РНК. Изменение метаболизма тканеспецифических РНК может объяснить разнообразие симптомов у больных МД.

Таким образом, патогенез МД на молекулярном уровне складывается из эффектов, производимых экспансией повтора CTG на свойства мРНК, кодируемой геном *DMPK*, а также на уровень экспрессии нескольких генов, расположенных вблизи повтора.

При миотонической дистрофии выражен геномный импринтинг. У пациентов, рожденных больными матерями, наблюдается более тяжелая форма болезни, чем у пациентов, рожденных от больных отцов. Врожденная форма миотонической дистрофии характерна только для детей, рожденных больными матерями. Механизм импринтинга при данном заболевании заключается в экспансии триплетов в гене при мейозе у женщин, а при сперматогенезе этот процесс отсутствует.

Лекция 6. Моногенные наследственные заболевания

В настоящее время выделяют следующие типы наследования признаков:



Генные болезни, как и любые другие признаки, наследуются исходя из указанных типов наследования, и группы заболеваний. Они носят соответствующие названия – аутосомно-доминантные, аутосомно-рецессивные, Х-сцепленные болезни.

Аутосомно-доминантные болезни

Аутосомно-доминантный тип наследования характеризуется тем, что для развития болезни достаточно унаследовать мутантный аллель от одного из родителей. Для большинства болезней этого типа характерны такие патологические состояния, которые не наносят серьезного ущерба здоровью человека и в большинстве случаев не влияют на способность иметь потомство.

Основное правило аутосомно-доминантных болезней: ***если один из родителей является носителем мутации, то каждый ребенок имеет один шанс из двух заболеть***.

Характерные признаки аутосомно-доминантных заболеваний:

1. Болезнь встречается в каждом поколении родословной (передача болезней по вертикали).

2. Соотношение больных и здоровых приближается к 1:1.

3. Соотношение больных девочек и мальчиков равное.

4. Больные мужчины и женщины одинаково передают болезнь своим детям – мальчикам и девочкам.

5. У нормальных детей от больных родителей все дети нормальные.

6. Гомозиготы могут рождаться от двух больных родителей. Болезнь у них протекает тяжелее, чем у гетерозигот.

7. Если родители здоровы, а ребенок болен, то новая мутация появилась в яйцеклетке или сперме родителей. Множество новых мутаций происходит в половых клетках относительно пожилого отца.

Клиническая картина у носителей мутации может характеризоваться **различной пенетрантностью, экспрессивностью** и сроками **проявления болезни.**

Пенетрантность – это статистическое понятие, отражающее долю индивидов, у которых фенотипически проявляются генотипические признаки. Например, некоторые пациенты имеют в геноме мутации, но фенотипически они являются нормальными. Такое состояние рассматривается как снижение пенетрантности. Так, если пенетрантность равна 50 %, то это означает, что признаки, характерные для мутации, проявляются только у 50 % тех, кто несет мутантный ген.

Иногда, в случае неполной пенетрантности, при передаче признака пропускается одно поколение, причем признак не проявляется у индивида, который, судя по родословной, должен быть гетерозиготным. Неполная пенетрантность наблюдается при полипозе кишечника, ретинобластоме. Высокая пенетрантность свойственна больным хореей Гентингтона, синдромом Марфана, полная пенетрантность отмечается (при нейрофиброматозе).

Различная экспрессивость – характерная черта заболевания видна у всех индивидов, несущих мутантный ген, но проявляется по-разному у разных индивидов. Разнообразие клинических проявлений отмечается не только в разных семьях, но и среди членов одной семьи. Например, нейрофиброматоз у больных в одной семье может иметь проявления от множественных типов рака и деформации скелета до единичных бурых пятен на коже.

Особенностью ряда доминантных болезней является их *позднее проявление*. Иногда тяжелое доминантное заболевание проявляется только во время или после репродуктивного периода. Высокая вариабельность сроков начала заболевания наблюдается даже в пределах одной семьи. Наглядным примером может служить хорея Гентингтона, которая проявляется к 38–40 годам.

Наиболее часто в клинической практике встречаются следующие генные болезни с аутосомно-доминантным типом наследования: *гиперхолестеринемия, синдромы Марфана, Элерса–Данло, нейрофиброматоз 1 типа, миотоническая дистрофия, хорея Гентингтона*.

При аутосомных доминантных заболеваниях большинство мутаций *приводит к уменьшению продукта гена (белка) или возникновению неактивного или дефектного белка*. Повреждение одной копии гена, как правило, вызывает заметное угнетение функции белка в организме, что в свою очередь приводит к болезням.

Заболевания, обусловленные дефектами клеточных рецепторов и их лигандов. Гиперхолестеринемия

Заболевание обусловлено с мутацией генов, кодирующих рецептор к липопротеинам низкой плотности, характеризуется нарушением обмена липидов, тесно связано с патогенезом атеросклероза и ишемической болезнью сердца.

Гетерозиготы с мутацией в одной копии гена встречаются с частотой от 1:100 до 1:500 и имеют с рождения в 2 раза повышенный уровень холестерина в плазме крови. У гомозигот, имеющих мутации в обоих генах, уровень холестерина превышает норму в 6 раз. Эта форма встречается с частотой 1:250 000.

Клиническая картина полной гомозиготной формы семейной холестеринемии характеризуется появление ксантом на коже и сухожилиях, липоидной дугой роговицы, необычайно высоким содержанием холестерина (превышение нормы в 5–6 раз). В период полового созревания формируется атероматозное поражение устья аорты, сужение (стеноз) венечных артерий сердца, что проявляется систолическим шумом в аорте. Клинически развивается типичная картина ишемической болезни сердца. До применения современных методов лечения больные с семейной гиперхолестеринемией внезапно умирали в возрасте до 30 лет в связи с острой коронарной недостаточностью.

Гетерозиготная форма семейной гиперхолестеринемии часто остается невыясненной до взрослого состояния, пока не разовьется сердечно-сосудистая недостаточность. К 50 годам у 50 % мужчин с гетерозиготной формой развивается ишемическая болезнь сердца (на 20 лет раньше, чем у остальных людей). У женщин первые признаки болезни появляются на 10 лет раньше, чем у мужчин.

Лечебная помощь при гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии заключается в лекарственной терапии, направленной на снижение содержания холестерина, исключение факторов риска ишемической болезни сердца (*особенно курение*), позже применяют шунтирование.

Причины гиперхолестеринемии:

- избыточный синтез холестерина;
- нарушение рецепторного связывания холестерина на клетках-мишенях (гепатоцитах, клетках периферических тканей). Угнетение функции или снижение синтеза рецепторов к холестерину;
- низкий уровень в крови аполипопротеинов. Аполипопротеины транспортируют холестерин от мест синтеза или всасывания к клеткам-мишеням.

Заболевания, обусловленные нарушением синтеза или структуры ключевых структурных белков

Мутации генов, кодирующих синтез коллагена и фибриллина, приводят к нарушению свойств волокнистой соединительной ткани. Поскольку соединительная ткань – основа всех органов и тканей, то и нарушения, вызванные этими мутациями, затрагивают различные системы организма, что определяет разнообразную клиническую картину (фенотип) при этих наследственных болезнях.

Синдром Марфана – наследственная доминантная болезнь соединительной ткани. Причиной ее развития являются мутации в генах *фибриллина, при этом* нарушается синтез и структура белка фибриллина. Выявлено несколько типов мутаций (в основном миссенс-мутации), ведущих к нарушению синтеза белка. При взаимодействии мутантного белка с нормальным происходит нарушение структуры микрофибрилл.

Фибриллин встречается в двух формах 1 и 2, кодируемых различными генами – *FBN1* (15 хромосома) и *FBN 2* (5 хромосома). Повреждение гена FBN2 (5) вызывает развитие одной из форм арахнодактилии, характеризующейся аномальным развитием скелета (одним из признаков заболевания являются аномально длинные и тонкие пальцы).

Мутации гена FBN1 (15) приводят к развитию синдрома Марфана. Болезнь затрагивает многие системы организма и имеет разнообразные проявления: от легких форм, трудно отличимых от нормы, до крайне тяжелых. При заболевании обнаруживаются нарушения в скелете (арахнодактилия, высокий рост, длинные конечности, деформация позвоночника, передней стенки грудной клетки, ненормальная подвижность суставов), подвывих хрусталика, миопия, отслойка сетчатки, нарушение строения сосудистой стенки (особенно аорты), пролапс митрального клапана.

Нередко люди с синдромом Марфана умирают от аневризмы аорты, поскольку самый крупный сосуд тела не выдерживает давления крови и рвется. Как правило, у этих людей повышенное содержание адреналина в крови и они находятся в возбужденном состоянии.

Частота синдрома Марфана в популяции составляет 1:10 000–15 000. Вероятность рождения ребенка с синдромом Марфана повышается с увеличением возраста отца, особенно после 35 лет.

Синдром Элерса–Данло наследственная болезнь соединительной ткани. Болезнь вызвана мутациями в разных генах коллагена, что приводит к *нарушению синтеза и структуры коллагена*.

Молекула коллагена состоит из трех цепей и имеет сложную пространственную организацию. Мутация одной из цепей приводит к *нарушению структуры белка и потере его функциональных свойств*.

Волокна коллагена при этом приобретают неправильную форму и располагаются беспорядочно. В результате развивается патология костной и соединительной ткани. Для синдрома характерны гиперрастяжимость кожи, повышенная подвижность суставов, нарушения в развитии скелета.

Нейрофиброматоз 1 типа

Это тяжелая многосистемная болезнь, в результате которой поражается нервная система. Нейрофиброматоз 1-го типа относится к полностью пенетрантным болезням, то есть наличие мутации обязательно проявляется фенотипически.

Ген, вызывающий заболевание, локализован в 17 хромосоме. В нем обнаружено более 100 типов мутаций (транслокации, делеции, вставки, точковые замены и др.), однако корреляция клинической картины с типом мутаций не установлена.

Симптоматика нейрофиброматоза 1-го типа разнообразна, в патологический процесс вовлекаются несколько систем, главные мишени – кожа, глаза, ЦНС. Фенотипические проявления нейрофиброматоза 1-го типа значительно варьируют даже у членов одной семьи.

Это могут быть светло-коричневые пигментные пятна. В любом участке тела могут возникать нейрофибромы. Часто они располагаются по ходу нервных стволов и иногда захватывают крупные нервы и нервные сплетения. Иногда у одного больного могут быть тысячи нейрофибром, а масса их может достигать 15 кг и более.

Для заболевания характерны костные изменения – врожденное искривление или утончение длинных трубчатых костей, дисплазия и нейрофиброма глазницы, глиома зрительного нерва.

Наряду с описанными симптомами, у 20–30 % детей наблюдаются когнитивные нарушения (трудности в обучении).

Наиболее опасными проявлениями болезни являются опухоли, они могут быть или злокачественными или располагаться в недоступных и жизненно важных участках (черепные нервы, малый таз, ЖКТ). Неблагоприятное течение нейрофиброматоза 1-го типа отмечается у 30 % больных. Патогенез заболевания неясен, поскольку оно имеет слишком разные проявления: пигментные пятна, костные изменения, когнитивные нарушения и т. д. Частота нейрофиброматоза 1-го типа 1:3 500–4 000 новорожденных.

Аутосомно-рецессивные болезни

Аутосомно-рецессивный тип наследования болезней наблюдается в браках фенотипически нормальных гетерозигот. Вероятность того, что ребенок окажется больным, составляет 25 %.

В большинстве случаев при таких болезнях продукт мутантного гена (белок) теряет свою функцию. У гетерозигот синтезируется 50 % белка. Эта мутация незаметна и фенотип нормальный. *Заболевания проявляются только у гомозигот.*

Аутосомно-рецессивные болезни характеризуются следующими свойствами:

1. Начало болезни проявляется в ранние периоды жизни.
2. Родители обычно клинически нормальны.
3. Если больны оба супруга, все дети больны.
4. В браке больного со здоровым рождаются нормальные дети (если здоровый не гетерозиготен).
5. Оба пола поражаются одинаково.

Браки, в которых оба родителя гетерозиготны, встречаются наиболее часто. Риск появления гомозиготного, а значит, больного ребенка составляет 25 %. Браки, когда оба родителя гомозиготны, очень редки. Естественно, что все дети в таком случае будут гомозиготными, а потому больными. Браки гетерозигот (здоровых) с гомозиготами (больными) встречаются, в основном, среди кровных родственных.

При рецессивных заболеваниях *экспрессивность проявления* признаков более однородная, чем при доминантных заболевания, и практически отсутствует *неполная пенетрантность*.

Наиболее типичными болезнями с аутосомно-рецессивным типом наследования являются *муковисцедоз, фенилкетонурия, галактоземия, болезнь Коновалова–Вильсона, мукополисахаридозы*.

Молекулярная природа возникновения аутосомно-рецессивных заболеваний – это **нарушения в единичных генах**:

1) кодирующих транспортные белки;
2) кодирующие ферменты репарирующей системы ДНК;
3) кодирующие ферменты обмена веществ;
4) гемоглобинопатии.

Заболевания, вызванные нарушениями в генах, кодирующих транспортные белки

Муковисцидоз (кистозный фиброз) – системное наследственное заболевание, обусловленное мутацией гена трансмембранного регулятора муковисцидоза (МВТР) и характеризующееся поражением желез внешней секреции, тяжелыми нарушениями функций органов дыхания и желудочно-кишечного тракта.

Слово «муковисцидоз» происходит от латинских слов *mucus* – «слизь» и *viscidus* – «вязкий». Это название означает, что секреты (слизь), выделяемые различными органами, имеют слишком высокую вязкость и густоту. В результате страдают все органы: бронхолегочная

система, поджелудочная железа, печень, железы кишечника, потовые, слюнные и половые железы.

В легких из-за скапливающейся вязкой мокроты развиваются воспалительные процессы. Нарушается вентиляция и кровоснабжение легких. Возникает мучительный кашель – это один из постоянных симптомов болезни. Легкие легко инфицируются, чаще всего стафилококком или синегнойной палочкой. У больных развиваются повторяющиеся бронхиты и пневмонии, иногда уже с первых месяцев жизни. Инфекция еще сильнее увеличивает вязкость мокроты. Нарушение удаления секрета и дальнейшее его скопление в бронхолегочной системе ведет к развитию воспалительного процесса, в результате чего клетками крови выделяется избыточное количество ферментов, разрушающих эпителий дыхательных путей. Такие состояния крайне опасны для жизни больного, именно от дыхательной недостаточности погибает подавляющее большинство больных.

Из-за недостатка ферментов поджелудочной железы у больных муковисцидозом плохо переваривается пища, поэтому такие дети, несмотря на повышенный аппетит, отстают в весе. Из-за застоя желчи у некоторых детей развивается цирроз печени, могут сформироваться камни в желчном пузыре.

Существует несколько форм муковисцидоза: легочная форма, кишечная форма, но чаще всего наблюдается смешанная форма муковисцидоза с одновременным поражением желудочно-кишечного тракта и органов дыхания. Встречаются также и другие формы болезни.

Причиной патологических изменений при муковисцидозе является мутация гена трансмембранного регулятора муковисцидоза. Ген находится на 7 хромосоме, продукт гена – белок муковисцедозный трансмембранный регулятор проводимости. Этот белок регулирует транспорт электролитов (главным образом хлора) через мембрану клеток, выстилающих выводные протоки экзокринных желез. Мутация приводит к нарушению структуры и функции синтезируемого белка, нарушается водно-электролитный обмен клеток дыхательной, пищеварительной и половой систем, происходит усиленное всасывание воды в клетку из межклеточного пространства. Из-за этого секрет желез внешней секреции в пораженных тканях становится чрезмерно густым и вязким.

Если сохраняется хотя бы 10 % активности белка, болезнь не проявляется. Частота встречаемости – 1:2500. Заболевание чаще встречается на Кавказе и в Европе, реже в Азии и Африке.

Болезнь Вильсона–Коновалова (гепатолентикулярная дегенерация) – редкое наследственное заболевание, в основе которого лежит нарушение метаболизма меди и накопление ее в печени и других внутренних органах. Заболевание протекает с преимущественным пораже-

нием печени и ЦНС, вовлечением в патологический процесс органа зрения и почек. Болезнь вызвана генной мутацией, в результате которой развивается дефицит фермента, регулирующего синтез белка церуллоплазмина.

Церуллоплазмин связывается с медью и в составе желчи выводит ее из организма через кишечник. При мутации нарушается связывание меди с церуллоплазмином и ее выведение из организма затрудняется, повышается содержание меди, в первую очередь, в печени. В печени образуется комплекс меди с цитоплазматическими белками печеночных клеток. Концентрация меди в ткани печени больных увеличивается в 100 раз. Токсическое действие меди на ткань печени на начальных этапах заболевания может проявляться в форме хронического неспецифического реактивного гепатита, жировой дистрофии печени, далее развивается цирроз.

После перенасыщения печеночной ткани медь накапливается преимущественно в серых ядрах головного мозга, почках и роговой оболочке глаз. При быстром поступлении больших количеств меди в кровь она фиксируется на мембране эритроцитов, вызывая развитие гемолитической анемии. Накопление меди в ЦНС сопровождается симметричным размягчением ткани головного мозга в области оболочки таламуса и коры мозга.

Болезнь Вильсона–Коновалова относится к числу наиболее трудно диагностируемых заболеваний печени в связи с длительным латентным течением на начальных стадиях и большим полиморфизмом клинической картины. Среди больных несколько преобладают мужчины, но у женщин заболевание проявляется раньше. Конечная стадия болезни Вильсона–Коновалова – сформированный цирроз печени. Для болезни типичны двигательные нарушения, которые характеризуют поражение нервной системы. Отмечаются разнообразные психические нарушения – асоциальное поведение, шизофрения, неврозы, слабоумие. Болезнь встречается с частотой 1:200 000.

Заболевания, возникающие в результате мутации в генах репарирующей системы ДНК

Пигментная ксеродерма развивается при мутации генов, кодирующих ферменты репарации ДНК. В результате развивается дефицит или полное отсутствие в клетках больного фермента УФ-эндонуклеазы. Этот фермент ответствен за репарацию молекулы ДНК, пораженной под действием ультрафиолетовых лучей или других экзогенных факторов. Заболевание чаще всего развивается под влиянием лучей, имеющих длину волны 280–310 нм.

Проявлением болезни является повышенная чувствительность к УФ. Заболевание начинается с раннего детства весной или летом. На участках кожи, подверженных влиянию солнечных лучей, развивается эритема (аномальное покраснение кожи или слизистой оболочки, вызвано притоком крови к капиллярам), появляются телеангиэктазии («сосудистые звездочки»). В последующем наблюдаются рост папиллом и бородавок (в основном на коже лица, шеи), появление пятен и язв. В результате рубцевания язв нос истончается («клюв птицы»), глазное веко выворачивается. Обычно папилломы превращаются в злокачественные опухоли. Пигментная ксеродерма, как правило, встречается вместе со спиноцеллюлярным раком, меланосаркомами.

Спустя 10–15 лет от начала заболевания в атрофически измененных очагах и пигментных пятнах появляются злокачественные опухоли кожи (базалиома, эндотелиома, ангиосаркома). Опухоли за короткое время разрушаются, дают метастазы во внутренние органы и приводят к смерти. Во внутренних органах и тканях некоторых больных наблюдаются общие дистрофические изменения (синдактелия II, III пальцев ног (сращивание), дистрофия зубов, полное выпадение волос и др.).

Существуют неврологические формы заболевания, которые проявляются в виде микроцефалии, слабоумия, замедления роста костного скелета, его деформациями, карликовостью.

Заболевания, возникающие при мутации генов, кодирующих ферменты обмена веществ

Заболевания этой группы вызваны:

1) нарушением обмена углеводов;
2) нарушением обмена аминокислот;
3) нарушением лизосомного переваривания (болезни накопления):
   - в результате нарушения обмена углеводов,
   - в результате нарушения обмена липидов.

Галактоземия. Наследственное *нарушение обмена углеводов*, обусловленное неспособностью организма их усваивать. Такие формы патологии обмена часто проявляются в раннем возрасте.

Наследственная непереносимость *галактозы* встречается по разным данным с частотой от 1:15 000–100 000, частота гетерозиготных носителей 1:268.

Ген заболевания картирован на хромосоме *9p13*. Основной тип мутаций – однонуклеотидные замены.

При нормальном метаболизме лактоза, содержащаяся в молочных продуктах, под действием фермента лактазы расщепляется, образуя галактозу, а затем, благодаря работе фермента *галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы (ГФУТ)*, – в глюкозу. У людей, больных

галактоземией, этот фермент, необходимый для преобразования галактозы в глюкозу, или отсутствует, или находится в очень низкой концентрации, что приводит к накоплению *токсического галактозо-1-фосфата* в различных тканях.

В основе патогенеза заболевания лежит токсическое воздействие на мозг, печень, кишечник и почки галактозы и галактозо-1-фосфата, накапливающихся в организме в результате метаболического блока. Токсическое действие заключается в подавлении бактерицидной активности лейкоцитов, что приводит к развитию септических процессов. При значительном накоплении галактозы она может метаболизироваться по побочному пути с образованием сахарного спирта – галактиола. Увеличение содержания этого вещества часто приводит к разрыву волокон хрусталика и возникновению катаракт.

Важная роль в патогенезе заболевания также принадлежит частым гипер- и гипогликемическим состояниям, нарушениям электролитного и водного баланса, образованию в различных тканях токсических продуктов метаболизма (кетокислот и др.), вызывающих метаболические и структурные нарушения в ткани мозга, с дегенерацией клеток вследствие накопления в них промежуточных продуктов углеводного обмена.

Первые клинические симптомы непереносимости галактозы появляются вскоре после рождения ребенока, как только он начинает получать молоко. При полном отсутствии ГФУТФ у новорожденного возникают неукротимая рвота, желтуха, понос, увеличивается в размерах печень. Затем появляются симптомы нейротоксикоза – судороги, нистагм, грубые глазодвигательные нарушения (плавающие движения глазных яблок), затруднения при сосании и глотании. Снижены или отсутствуют рефлексы новорожденного, особенно хватательный, группа защитных рефлексов. Нарастает отек мозга и легких, летальный исход наступает через несколько месяцев. Смертность детей грудного возраста с диагнозом галактоземия без лечения составляет около 75 %. У выживших развиваются катаракта и умственная отсталость.

Основа терапии – безлактозная диета с первых дней жизни ребенка. Сегодня для пациентов с галактоземией существуют специальные искусственные питательные смеси, не содержащие молочный сахар (низколактозные смеси). По мере роста ребенка рацион питания расширяется постепенно. Диету с ограничением лактозы следует строго соблюдать до 5-летнего возраста, в дальнейшем может наступить частичная компенсация нарушенной работы ферментов. Альтернативным источником углеводов для больных с галактоземией могут быть продукты на основе фруктозы.

Фенилкетонурия (нарушение обмена аминокислот). Болезнь развивается в результате мутации гена, который отвечает за синтез фер-

мента *фенилаланингидроксилазы* (ФАГК), который метаболизирует аминокислоту фенилаланин.

Фенилаланин (ФА) принадлежит к числу незаменимых аминокислот. Только часть ФА используется для синтеза белков. Основное количество этой аминокислоты окисляется до *тирозина*. Если фермент ФАГК неактивен, то ФА не превращается в тирозин, а накапливается в сыворотке крови в больших количествах в виде *фенилпировиноградной кислоты (ФПВК)*, которая выделяется с мочой и потом, вследствие чего от больных исходит мышиный запах.

Дети с фенилкетонурией рождаются здоровыми, но в первые же недели жизни у них развиваются клинические проявления болезни. ФПВК является нейротропным ядом, в результате чего повышаются возбудимость, тонус мышц, развиваются гиперрефлексия, тремор, судорожные эпилептиформные припадки. Позже присоединяются нарушения высшей нервной деятельности, умственная отсталость, микроцефалия. Существенную роль в патогенезе болезни играет недостаточный синтез тирозина, который является предшественником тиреоидных гормонов, катехоламинов и меланина. При нарушении синтеза меланина у больных наблюдается слабая пигментация. Больные отличаются характерной внешностью: светлые волосы, кожа абсолютно белая, без пигментации, глаза светлые.

Эффективным методом лечения ФКУ является диетотерпия – исключение из пищи ребенка продуктов, содержащих фенилаланин. Диета исключает мясные, рыбные, молочные и другие продукты, содержащие животный и, частично, растительный белок. Дефицит белка восполняется аминокислотными смесями без фенилаланина. Для предотвращения необратимых явлений в мозге лечение необходимо начинать с первых недель жизни и постоянно (до 7–10 лет) следить за уровнем фенилаланина в крови. Лечение необязательно проводить в течение всей жизни, так как мозг взрослого человека устойчив к высоким концентрациям ФПВК.

Болезнь встречается с частотой 1:6 000–10 000.

Мукополисахаридозы (МПС) (болезни накопления, связанные с нарушение обмена углеводов) – большая группа наследственных болезней соединительной ткани, обусловленных нарушением метаболизма *гликозамингликанов* (кислых мукополисахаридов) (ГАГ) в лизосомах.

ГАГ представляют собой сложные гетеросахара, состоящие из длинных полисахаридных цепей, построенных из остатков глюкуроновой кислоты и сульфатированного гексозамина, входят в состав соединительной ткани.

Причиной заболевания является нарушение функции лизосомальнх ферментов, участвующих в их расщеплении. В результате избыток ГАГ поступает в кровь и накапливаются в органах и тканях (называют болез-

ни накопления), при этом нарушаются функции многих органов и систем. Поскольку ГАГ входят в состав соединительной ткани, то одним из ведущих проявлений мукополисахаридоза является системное поражение скелета, задержка физического развития.

Клинические симптомы заболевания проявляются к 2–3-летнему возрасту, когда количество нерасщепленного субстрата в лизосомах достигает критического уровня. При этом лизосомы различных тканей представляют собой увеличенные в размере раздутые вакуоли.

К настоящему времени описано10 генетических вариантов МПС. *Первый тип МПС,* рассматриваемый нами, характеризуется наличием двух аллельных вариантов – *болезни Гурлера* и *болезни Шейе*. Они обусловлены разными мутациями в одном и том же гене. Клинические проявления этих двух вариантов значительно отличаются друг от друга.

Признаки болезни Гурлера появляются уже на первом году жизни, к двум годам они ярко выражены: грубые черты лица; шумное дыхание ртом из-за аденоидов и пороков развития лица и носа; прогрессирует отставание в росте, формируется неправильное телосложение и деформация скелета, развивается ограничение подвижности вначале в суставах верхних, позже в суставах нижних конечностей – больные хотят на полусогнутых ногах на цыпочках. За счет слабости брюшной стенки и гепатоспленомегалии живот увеличен в размерах; поражение соединительной ткани проявляется в пупочных и паховых грыжах, а также нарушениях работы сердца. Обнаруживаются изменения со стороны глаз – помутнение роговицы, врожденная глаукома; наблюдается снижение слуха. С возрастом прогрессирует умственная отсталость, вплоть до идиотии, неврологические расстройства (параличи, нарушение координации движений). Больные погибают в возрасте до 10 лет.

При болезни Шейе первые симптомы (ограничение разгибания пальцев рук) появляются в 3–6 лет. Постепенно развивается ограничение подвижности суставов верхних конечностей. Наиболее выражены симптомы к периоду половой зрелости – небольшая задержка роста, фигура коренастая с сильно развитой мускулатурой, черты лица грубые. Отмечаются пупочная и паховая грыжи, возможна глаукома и помутнение роговицы. Интеллект больных нормальный. Болезнь не летальная.

Сфинголипидозы (болезни накопления, связанные с нарушением обмена липидов) – нарушения метаболизма липидов, главным образом сфинголипидов, вызванные отсутствием соответствующих лизосомных ферментов.

Сфинголипиды являются важнейшими структурными компонентами клеточных мембран, в частности миелиновых оболочек нервных волокон. Нарушение их метаболизма в лизосомах клеток приводит

к поражению большинства жизненно важных органов, включая серое и белое вещество головного мозга.

При сфинголипидозах наблюдается выраженный клинический полиморфизм по времени начала и тяжести течения болезни. Болезни характеризуются прогрессирующими умственными и двигательными расстройствами вследствие нарушения функции структур головного мозга, поражениями костей, паренхиматозных органов (печень, селезенка, почки), кожи и сетчатки глаза. Болезни встречаются редко – 1:3 млн, за исключением болезни Тея–Сакса (1:5 000 среди евреев Ашкенази).

Болезнь Тея–Сакса возникает вследствие недостаточной активности фермента *гексозаминидазы А*, который в лизосомах катализирует метаболизм жирных кислот *ганглиозидов*. При нарушении функции фермента липиды накапливаются в головном мозге и препятствуют нормальным биологическим процессам.

Болезнь развивается в результате мутации *гена HEXA*, который находится на *15 хромосоме*. Обнаружено более 100 мутаций в этом гене, и количество известных мутаций постоянно увеличивается. Это могут быть инсерции, делеций, сплайсинговые мутации, *точковые замены* и др.

Эти мутации часто встречаются в нескольких популяциях франко-канадцев, живущих на юго-востоке провинции Квебек, евреев-ашкенази, европейской популяции, представителей этнической группы Кейджн (живут на территории южной Луизианы)

Болезнь Тея–Сакса классифицируется в зависимости от времени возникновения неврологических симптомов.

Детская форма. На протяжении первых шести месяцев после рождения дети развиваются нормально. Но после того как нервные клетки накапливают ганглиозиды наблюдается непрерывное ухудшение умственных и физических способностей больного. Ребенок слепнет, развивается глухота, не может глотать. Мышцы начинают атрофироваться, вследствие чего наступает паралич. Смерть обычно наступает в возрасте до четырех лет.

Подростковая форма. Эта форма заболевания встречается редко и проявляется в возрасте от 2 до 10 лет. У детей появляются трудности в обучении, затруднена речь, нарушается координация движений, походка становится шаткой, затруднено глотание, повышается тонус мышц. Пациенты с подростковой формой обычно умирают в возрасте от 5 до 15 лет.

Взрослая форма. Редкая форма расстройства, возникает у пациентов в возрасте от 20 до 30 лет. Как правило, эта форма не имеет летального исхода. Она характеризуется нарушением походки и прогрессирующим ухудшением неврологических функций. Симптомы сходны с подростковой формой, добавляются психические заболевания, в частности шизофрения.

Гемоглобинопатии

Это заболевания, вызванные мутациями генов гемоглобина и нарушением транспорта кислорода в ткани организма. Гемоглобинопатии подразделяются на две основные категории: серповидноклеточную анемию и талассемии.

Серповодно-клеточная анемия. Молекула гемоглобина состоит из двух α-цепей и двух β-цепей. При замене в одной из α-цепей в 6-м положении глутамина на валин образуется аномальная форма гемоглобина, характеризующаяся пониженной способностью связывать кислород.

При этом изменяется форма эритроцитов с ровной, кольцевидной на серповидную. Такие деформированные эритроциты теряют пластичность и могут закупоривать мелкие кровеносные сосуды, нарушая кровоток. Это состояние ведет к преждевременному распаду и гемолизу эритроцитов и кислородному голоданию клеток и тканей. Низкий уровень содержания кислорода в крови и закупорка кровеносных сосудов у людей с этой болезнью могут приводить к синдромам хронической острой боли, тяжелым бактериальным инфекциям и некрозу тканей.

Талассемии обусловлены мутациями глобиновых генов, приводящими к уменьшению содержания глобинов и, соответственно, снижению уровня гемоглобина. Причиной α-талассемий служат полные делеции α-глобиновых генов, расположенных в 16 хромосоме. Таких генов 4 и от числа отсутствующих генов зависит тяжесть заболевания. При *β*-талассемиях имеется дефицит синтеза *β*-глобина. Генетические эффекты могут быть разнообразными (делеции, точечные мутации и др.). При выраженных талассемиях наблюдается гемолитическая анемия, гипоксия. У гетерозиготных носителей гена β-талассемии выраженные признаки анемии обычно не обнаруживаются.

Регионы распространения талассемии:

- Приблизительно 5 % населения мира являются здоровыми носителями гена серповидноклеточной анемии или талассемии. В некоторых странах доля людей, которые являются носителями этого гена, достигает 25 %.
- Данные состояния более всего распространены в тропических районах, однако в результате миграции населения эти болезни распространились в большинство стран.
- Талассемии более всего распространены в Азии, Средиземноморском бассейне и на Ближнем Востоке.
- Серповидноклеточная анемия преобладает в Африке.

Гемоглобинопатии особенно распространены в регионах с высокой заболеваемостью малярией. Гомозиготы по мутантным аллелям (больные гемоглобинопатиями) погибают от наследственной болезни, не оставляя

потомства. У гетерозигот болезнь не проявляется. Они имеют преимущество при проживании в регионах с распространением малярии – малярийный плазмодий не поражает лиц с аномальным гемоглобином.

Болезни с Х-сцепленным рецессивным типом наследования

При редко встречающихся болезнях этого типа наследования женщины практически всегда гетерозиготны, то есть фенотипически нормальны (здоровы) и являются носительницами. Больными бывают, как правило, мужчины.

Рассмотрим несколько возможных примеров взаимодействия женских и мужских генотипов при Х-сцепленном наследовании. Символ «А» используем для обозначения доминантного нормального аллеля, символ «а» – для рецессивного аномального аллеля. Возможны следующие браки:

1) АА♀ × А♂ – все дети имеют нормальный фенотип А, девочки и мальчики здоровы;

2) аа♀ × а♂ – все дети имеют мутантный фенотип а, все больны;

3) АА♀ × а♂ – у всех сыновей присутствует материнский аллель «А», все они здоровы. Все дочери гетерозиготны «Аа». Фенотипически они здоровы, но являются носительницами аномального аллеля «а»;

4) аа♀ × А♂ – все сыновья поражены «а», дочери являются гетерозиготными носительницами «Аа»;

5) Аа♀ × А♂ –

АА♀ Аа♀ А♂ а♂ – все дочери фенотипически нормальны и половина из них является гетерозиготными носительницами «Аа», половина сыновей здоровы «А», половина – больны «а»;

6) Аа♀ × а♂

Аа♀ аа♀ А♂ а♂ – половина дочерей поражено, половина – носительницы, половина сыновей здоровы, половина – больны.

- Доля унаследованных случаев более 2/3.
- Больные мужчины передают патологический аллель всем своим дочерям и никому из сыновей (3).
- Все фенотипически нормальные дочери больных мужчин являются носительницами (3, 6).

- В браке женщины-носительницы и больного мужчины 50 % дочерей больны, 50 % носительницы, 50 % сыновей больны, 50 % сыновей здоровы (6).
- Иногда гетерозиготные женщины могут быть больными в связи с гетерохроматинизацией хромосомы с нормальным аллелем случайно во всех или почти во всех клетках.

К Х-сцепленным хромосомным болезням относятся дефицит глюкозо-6 фосфатдегидрогеназы, гемофилия А и В, мышечная дистрофия Дюшенна–Беккера.

Дефицит глюкозо-6 фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ)

При приеме больными некоторых лекарств и растительных продуктов, обладающих окислительными свойствами, происходит гемолиз эритроцитов.

Дефицит фермента вызывается наследованием одного из множества (до 100 вариантов) аномальных аллелей гена, ответственных за синтез фермента Г-6-ФДГ. Г-6-ФДГ является ключевым ферментом прямого аэробного окисления фосфорилированной глюкозы (глюкозо-6-фосфат) до CO_2 и H_2O (гексозомонофосфатный шунт метаболизма глюкозы). Этот процесс сопровождается накоплением восстановленного НАДФ-Н, необходимого для поддерживания глутатиона в восстановленном состоянии.

Глутатион присутствует в эритроцитах и нейтрализует агенты, которые окисляют гемоглобин или компоненты мембраны эритроцита. Если нарушаются процессы восстановления глутатиона, то в эритроцитах накапливаются кислородные радикалы, приводящие к преципитации гемоглобина, повреждению и преждевременному разрушению мембраны эритроцитов и к их гемолизу.

Примерно 13 % мужского афроамериканского населения имеет мутантный фермент Г-6-ФДГ *(африканский тип)*. Заболевание характеризуется нормальной продукцией фермента, который быстро разрушается. Гемолизу подвергаются «старые» эритроциты (старше 55 дней). Острый гемолиз происходит при первом применении лекарств, затем процесс становится хроническим и слабовыраженным.

У итальянцев, греков и других жителей Средиземноморья, Среднего Востока (5–40 % населения) распространенным является *средиземноморский тип* Г-6-ФДГ. Эта форма характеризуется наличием фермента со сниженной активностью, поэтому гемолизу подвергаются и старые и молодые эритроциты. Болезнь протекает остро, независимо от периода применения лекарств.

При сохранении даже 10 % активности фермента Г-6-ФДГ болезнь фенотипически не проявляется.

Одним из растительных продуктов, вызывающих гемолиз эритроцитов, являются конские бобы (Vicia faba) и заболевание часто называют фабизмом. Токсическим веществом бобов являются продукты гидролиза бета-гликозидов (вицин и конвицин), обладающие окислительными свойствами в 10–20 раз превосходящим таковые аскорбиновой кислоты.

Носители данной мутации должны с осторожностью применять лекарства, а также растительные пищевые продукты – конские бобы, крыжовник, красную смородину.

Гемофилия А

Тяжелое заболевание, обусловленное дефектом VIII фактора свертывания крови, важнейшего звена в системе свертывания крови. Встречается с частотой 1:2500 новорожденных мальчиков. Ген (F8C, HEMA) расположен на длинном плече Х-хромосомы *(Xq28)*. Продукт этого гена – фактор VIII образует комплекс с фактором Виллебранда (VWF). Он защищает белок от протеолитического гемолиза и регулирует его активность.

Половина всех больных гемофилией А не имеют фактора VIII, 5 % имеют нормальное количество неактивного белка, в остальных случаях активность белка сохранена, но резко снижено его количество.

В 70 % случаев заболевание передается по наследству, в 30 % – это вновь возникшие мутации. Показано, что мутации в гене F8 возникают в сперматогенезе в 3–5 раз чаще, чем в овогенезе. Это означает, что в 80–85 % случаев матери являются носителями мутации, возникшей в зародышевых клетках отца.

Мутации приводят к образованию неактивной формы белка, снижению его продукции или к нарушению связывания белка с фактором Виллебранда.

Заболевание обычно распознается на 2–3 году жизни, а в тяжелых случаях – при рождении (кровотечения из пупочного канатика, внутрикожные кровоизлияния). Для него характерны множественные кровоизлияния в крупные суставы конечностей (коленные, локтевые, голеностопные), подкожные, внутри- и межмышечные гематомы, кровотечения при травмах и хирургических вмешательствах, наличие крови в моче. Кровоизлияния в полость суставов приводят к развитию стойкой их тугоподвижности из-за остеоартрозов (развитие соединительной ткани в суставах).

Одним из наиболее известных примеров Х-сцепленного рецессивного наследования гемофилии А является родословная потомков королевы Виктории, которая являлась гетерозиготной носительницей мутантного гена и передала его всем своим детям, а также всем правнукам, которые оказались больны гемофилией, в том числе и русский царевич Алексей.

Гемофилия В

Заболевание обусловлено снижением активности следующего, IX фактора свертываемости крови, важного компонента средней фазы свертывания крови. Встречается в 10 раз реже, чем гемофилия типа А. Ген (F9 HEMB) картирован *Xq27*. Клинические проявления болезни не отличаются от гемофилии А.

Фактор IX состоит из 415 аминокислотных остатков, соединенных в 8 доменов. 2 домена из 8 отвечают за связывание белка с кальцием, это необходимо для нормального функционирования белка. При мутации гена изменяется структура этих двух доменов, в результате фактор не связывается с кальцием и нарушается его активность. Нефункциональный фактор 9 не способен активировать фактор 10, следующий в каскаде процессор свертывания крови.

Как и при гемофилии А, мутации чаще возникают в сперматогенезе, чем в овогенезе. Считается, что получение мутации от отца в 11 раз выше, чем от матери. Обнаружена четкая корреляция между возрастом отца и вероятностью получения от него новой мутации в гене F9. Так, средний возраст отца в момент рождения дочери – носительницы новой мутации, составляет около 42 лет.

Для гена фактора IX характерна высокая степень мутирования, в нем обнаружено более 400 мутаций. Характерно полное отсутствие специфических для данного заболевания мутаций, а также доминирующих областей с повышенной частотой мутирования.

Миодистрофия Дюшенна (МД)

Тяжелое заболевание, обусловленное мутацией гена дистрофина, кодирующего структурный белок сарколеммы. Встречается с частотой 1:3500 новорожденных мальчиков. Ген МД (DMD) – один из самых крупных генов человека и кодируется огромным количеством нуклеотидов, включающих 79 экзонов. Существует две клинические формы заболевания: тяжелая – *миодистрофия Дюшенна* и гораздо более легкая – *миодистрофия Беккера*. При МД дистрофин либо полностью отсутствует, либо деградирует вскоре после синтеза. При МБ дистрофин присутствует в измененном состоянии, чаще всего в укороченном.

В 60 % случаев в гене МД у мальчиков обнаруживаются протяженные делеции, захватывающие от одного до нескольких соседних экзонов. Также обнаруживаются дупликации, миссенс и нонсенс мутации. Высокий процент нонсенс-мутаций связан с присутствием в гене большого количества глутаминовых триплетов, мутации в которых часто приводят к образованию стоп-кодонов.

Глютамин – CAA и CAG;

UAA, UAG или UGA – стоп-кодоны.

Начало заболевания связано с началом ходьбы и интенсивной работы мембран мышечных клеток (митохондрий, ЭПР, СПР, аппарата Гольджи), которые вскоре разрушаются. Организм подвергается интоксикации продуктами распада, нарастает гипоксия, вовлекая в дегенеративный процесс все виды обмена веществ.

В возрасте 3–5 лет появляется слабость в мышцах бедер и таза с постепенным переходом процесса на икроножные мышцы, мышцы верхнего плечевого пояса, спины, живота и др. Появляется утиная походка. Заболевание неуклонно прогрессирует, дети оказываются прикованными к постели с 10–11-летнего возраста. Наблюдается псевдогипертрофия икроножных и ягодичных мышц за счет замещения мышечной ткани соединительной и жировой. Имеется тенденция к некоторому снижению умственных способностей. Продолжительность жизни больных 20–35 лет.

Лекция 7. Заболевания, в основе которых лежат мутации митохондриальных генов

Следует отметить, что 5 % ДНК находится в митохондриях, остальная – в ядре.

Главной особенностью наследования болезней, вызванных мутациями митохондриальных генов, является то, что они передаются только по материнской линии. Каждая яйцеклетка содержит до 25 000 митохондрий. Спермии не имеют митохондрий, поскольку при созревании мужских половых клеток цитоплазма элиминируется.

Таким образом, матери передают митохондриальную ДНК и сыновьям и дочерям, но только дочери способны переносить эту информацию к последующим поколениям.

Для митохондриальной наследственности характерны следующие признаки:

1. Болезнь передается только от матери.
2. Больны и девочки, и мальчики.
3. Больные отцы не передают болезнь ни дочерям, ни сыновьям.

Болезни, вызванные мутациями в митохондриальных генах, связаны с нарушениями в респираторной цепи. Респираторные цепи состоят более чем из 70 различных белков, которые формируют 5 ферментных комплексов, расположенных на внутренней мембране митохондрий. 13 белков из 70 синтезируются непосредственно в митохондриях на основе митохондриальной ДНК (мтДНК).

Белки, входящие в состав этих комплексов, кодируются как ядерной, так и митохондриальной ДНК, поэтому митохондриальные болезни могут возникать благодаря генетическим дефектам как в ядерном, так и в митохондриальном геномах.

Скорость мутаций в мтДНК в 10 раз больше, чем в геномной. Это происходит вследствие того, что мтДНК кольцевая, не имеет интронов, не защищена гистонами, не имеет эффективного механизма репарации, чувствительна к радикалам, возникающим в процессе окислительного фосфорилирования. МтДНК наследуется по материнской линии, поэтому не рекомбинирует и мутации накапливаются с возрастом матери.

Мутации в генах митохондрий приводят к поражению тех органов и систем, функции которых зависят от окислительного фосфорилирования: центральная нервная система, скелетные и сердечная мышцы, печень, почки.

Митохондриальные болезни могут возникать как в следствие больших структурных перестроек (единичные и множественные делеции или дупликации), так и точечных мутаций мтДНК (делеции, вставки).

Патогенетические точечные мутации найдены в каждом типе мтДНК:

• при мутации в участке мтДНК, кодирующей транспортную РНК, возникают энцефаломиелопатии, кардиомиопатии;

• кодирующих рибосомальную РНК – спонтанная и антибиотикассоциированная сенсеневральная глухота (паралич слухового нерва);

• в участках, кодирующих митохондриальные белки – оптические нейропатии.

Клинические проявления митохондриальных заболеваний могут быть подразделены на 4 группы: неврологические, сердечно-сосудистые, эндокринные, желудочно-кишечные.

Неврологические проявления отмечены как в центральной, так и в периферической нервной системе. К ним относятся нейропатии, атаксия – нарушение равновесия при стоянии, слабоумие, периферическая, оптические нейропатии (нарушения функции зрительного нерва от сетчатки до головного мозга), миопатия (поражение наружных мышц глаз), сосудистая головная боль.

Сердечно-сосудистые нарушения – **к**ардиомиопатия (нарушения функции сердечной мышцы).

Эндокринные нарушения проявляются в виде сахарного диабета 2-го типа. Панкреатические клетки являются метаболически высокоактивными, поэтому особенно чувствительны к нарушению процессов окислительного фосфорилирования. Сахарный диабет связан с точечной мутацией мтДНК, кодирующей тРНК Leu, ассоциированной с сенсориальной потерей слуха и нарушением секреции инсулина.

Желудочно-кишечные проявления мутаций мтДНК выражаются в псевдообструкции кишечника, гепатопатии, потере веса.

Кроме того, к системным болезням, связанным с мутациями мтДНК, можно отнести дегенерацию сетчатки, гломерулопатию (диффузное воспаление почек с преимущественным поражением клубочков), панцитопению (снижение содержания трех основных элементов крови – эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов), депрессии.

Лекция 8. Гонадальный мозаизм

При рассмотрении генных болезней, с точки зрения законов Менделя, принимается, что речь идет о так называемых *полных формах*, то есть формах, обусловленных мутациями в зародышевых клетках, когда патологические гены присутствуют во всех клетках организма.

Однако, наряду с полными, существуют и *мозаичные формы*. Любые мутации, в том числе и генные, могут возникать на ранних стадиях дробления зиготы в одной из клеток и тогда индивид будет *мозаичен* по данному гену. В одних клетках у него будет действовать нормальный аллель, а в других – мутантный или патологический. Если эта мутация доминантна, то она будет проявляться в соответствующих клетках и, очевидно, приведет к развитию болезни в менее тяжелой форме. Если мутация рецессивная, то ее эффект проявится только у гомозиготы. Вероятность появления двух рецессивных мутаций в одном и том же локусе гомологичных хромосом в одной клетке чрезвычайно мала.

В зависимости от времени появления мутации будет проявляться мозаизм соматических клеток или мозаизм половых клеток. Различают *мозаизм хромосомальный, мозаизм соматических клеток и мозаизм половых клеток*.

Клинические проявления *соматического мозаизма* зависят от того, в каких клетках и когда возникла мутация. Соматические мутации, возникающие на ранних этапах развития эмбриона, будут приводить к болезням более общего характера, чем мутации, возникающие на поздних стадиях. В течение последних лет соматический мозаизм доказан для 30 болезней в том числе, нейрофиброматоз 1 типа, миотоническая дистрофия, миодистрофия Дюшенна, при злокачественных заболеваниях (колоректальный рак и рак предстательной железы).

Половая дифференцировка эмбриона начинается к 7 неделе развития. После этого срока возможно появление мутаций, в результате которых развивается *мозаизм* не только в соматических, но и в *половых клетках*. Мозаичными могут быть от нескольких процентов до половины половых клеток. По причине возникновения мозаизма половых клеток у генетически нормальных родителей могут рождаться дети с Х-сцепленными (мышечная дистрофия Дюшенны, гемофилия А и В) или доминантными болезнями (нейрофиброматоз 1 и 2 типа, склероз).

Хромосомальный мозаизм

При нарушении течения митоза могут сформироваться особи, имеющие разное содержание половых хромосом в разных клетках (мозаичность). У человека могут быть разные случаи мозаизма. Если

процент мозаичных клеток велик, возможны морфофизиологические проявления.

При нормальном течении мейоза у женского организма образуется один тип гамет, содержащих Х-хромосому. Однако при нерасхождении половых хромосом могут образовываться еще два типа гамет: ХХ и 0 (не содержащих половых хромосом).

У мужского организма образуется два сорта гамет, содержащих Х и Y-хромосому. При нерасхождении хромосом возможные варианты гамет: ХY и 0. Составим таблицу возможных вариантов половых хромосом в зиготе у человека и проанализируем варианты:

м/ж	Х	ХХ	0
Х	ХХ	ХХХ	ХО
Y	ХY	ХХY	YO
ХY	ХХY	ХХХY	ХY#
О	ХО	ХХ#	ОО

ХХ – нормальный женский организм;
ХY – нормальный мужской организм;
Х0 и 0 – нежизнеспособны;
ХХ# нормальный, обе половые хромосомы от матери;
ХY# нормальный, обе половые хромосомы от отца.

ХО – синдром Шерешевского–Тернера (моносомия Х). Частота встречаемости: 1:2000–3000. Фенотип женский, однако первичные и вторичные половые признаки недоразвиты. Характерен малый рост – менее 1,5 м, имеются складки на задней поверхности шеи, низкое расположение ушей, в 25 % случаев отмечены пороки сердца и аномалии работы почек. Интеллект, как правило, в норме. Недоразвитие яичников приводит к бесплодию.

ХХХ – синдром трисомии Х. Частота встречаемости – 1:1000. Обычно женщины с таким кариотипом совершенно нормальны. Иногда наблюдается недоразвитие вторичных половых признаков, стерильность, умственная отсталость. Крайне редко встречается кариотип с 4 и 5 Х-хромосомами. В таких случаях перечисленные симптомы выражены значительно более резко. Таким образом, присутствие дополнительных Х-хромосом может нарушать сбалансированную наследственность и приводить к отклонениям от нормального уровня развития организма по женскому типу.

ХХY и ХХХY – синдром Кляйнфельтера. Частота встречаемости: 1:500. Фенотип мужской, однако первичные и вторичные половые признаки развиты слабо. Характерен высокий рост, относительно длинные

руки и ноги. Несмотря на мужские половые признаки, у этих лиц не до конца подавлено развитие женских половых признаков, имеется женский тип телосложения – увеличены молочные железы, бедра имеют округлую форму, слабо развит волосяной покров. Для таких больных характерна умственная отсталость.

XYY – лишняя Y-хромосома в кариотипе мужчин привлекла наибольшее внимание со стороны исследователей и общественности. Носители данного кариотипа – личности яркие, высокие, сильные мужчины, однако им свойственная жестокость и склонность к насилию. Среди них встречается много преступников.

Впервые носители этого кариотипа были обнаружены в одной из шотландских тюрем строгого режима. Среди 315 заключенных мужчин было 9 носителей кариотипа. Все они были выше среднего роста и находились в заключении вследствие асоциального поведения и совершения уголовных преступлений. Семеро из девяти страдали умственными, а двое – психическими расстройствами.

Согласно подсчетам некоторых специалистов, комбинация XYY встречается с частотой 1:3000. В Австралии в 1968 г. оправдали убийцу на основании того, что он имел XYY-набор половых хромосом. Преступник якобы не был в состоянии контролировать свои поступки.

Однако последующие исследования установили корреляцию данного кариотипа только с высоким ростом (выше 1,8 м), но не с уровнем интеллекта. Связи с асоциальным поведением не было установлено, однако имеется предрасположенность к проблемному поведению.

Лекция 9. Полигенные многофакторные болезни

Полигенные многофакторые заболевания возникают при комбинированном воздействии одного или нескольких мутантных генов и факторов окружающей среды. Генетические факторы предрасположенности представлены генами из нескольких систем. Это так называемые *полигенные системы предрасположенности*. Генетический компонент проявляется в дозозависимом эффекте: чем большее количество мутантных генов, тем большее количество синдромов может возникнуть.

Примерами мультифакторных заболеваний могут служить ожирение, гипертензия, атеросклероз, сахарный диабет, метаболический синдром, рак различной локализации.

Атеросклероз

Атеросклероз (А) – распространенное хроническое заболевание. Оно характеризуется возникновением в стенках артерий очагов липидной инфильтрации и разрастанием соединительной ткани с образованием фиброзных бляшек. Бляшки сужают просвет и нарушают физиологические функции пораженных артерий, что приводит к органным и (или) общим расстройствам кровообращения.

Осложнения атеросклероза – инфаркт миокарда и мозговой инсульт занимают соответственно первое и второе места среди заболеваний, приводящих к смертельному исходу.

Среди причин, способствующих развитию атеросклероза, выступают на первый план социально-экономические, урбанистические факторы: низкая физическая активность, состояние хронического стресса, характер питания (потребление рафинированной высокоочищенной пищи: сахар, мука высшего сорта, рафинированное масло, простые углеводы, насыщенные и трансжиры).

Подавляющее большинство форм ИБС представляет мультифакториальную патологию: для проявления генетического предрасположения необходимо неблагоприятное воздействие вышеуказанных внешних факторов и, как правило, их совокупности.

Генетическая предрасположенность к А доказана наличием морфологическими изменениями на стенках крупных артерий у лиц подросткового и молодого возрасте, схожими с атеросклеротическими процессами у взрослых больных А.

К *генетически детерминированным факторам* относят:

1. Пол – начало атеросклеротического процесса у женщин происходит на 10–15 лет позже, чем у мужчин. Это обусловлено гормональным фоном, более выраженной коронарной коллатеральной сетью сосудов,

менее тонкой интимой артериальных сосудов, особенностью гистохимического строения стенок аорты и коронарных сосудов.

2. Особенность телосложения (конституция) – чаще и раньше (примерно на 20 лет) ИБС развивается у лиц с гиперстеническим типом (пикническим) телосложения (средний рост, склонность к полноте, слабо выражена мышечная система, полное лицо, короткая толстая шея, руки и ноги полные). Тип телосложения обусловлен высоким уровнем ХС в крови, особенностями липидного и углеводного обмена.

3. Строение коронарных сосудов и аорты.

4. Нарушения в свертывающей системе (склонность к гиперкоагуляции).

5. Артериальная гипертензия.

6. Сахарный диабет II типа.

7. Нарушения липидного обмена в виде повышения уровней холестерина, липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), снижения уровня липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), нарушения строения и функционирования рецепторного аппарата ЛПНП.

Липиды, принимающие участие в формировании атеросклероза

Прямое отношение к развитию А имеют основные фракции липидов, которые циркулируют в крови – *холестерин (ХС), триглицериды (ТГ), фосфолипиды (ФЛ)*.

Холестерин является обязательным компонентом всех животных клеток и выполняет в организме ряд жизненно важных физиологических функций:

1. Является важнейшим компонентом всех клеточных мембран, обеспечивает стабильность и нормальную жизнедеятельность всех клеток. Особенно высокое содержание холестерина в нервных клетках, ЦНС;

2. Из ХС в печени синтезируются желчные кислоты, необходимые для эмульгации и абсорбции жиров в тонком кишечнике;

3. ХС – предшественник стероидных гормонов коры надпочечников (гидрокортизона и альдостерона), половых гормонов (эстрогенов и андрогенов).

Источником экзогенного ХС, поступающего в организм с пищей, служат продукты животного происхождения. При обычном смешанном питании человек получает с пищей 300–500 мг, реже 1000 мг холестерина в день, кроме того, столько же ежедневно образуется в самом организме. Пищевой ХС не имеет жизненно важного значения, поскольку даже при полном его отсутствии в пище (вегетарианцы) эндогенного ХС вполне достаточно для обеспечения потребности в нем организма. Если в организм поступает много ХС с пищей, то его синтез подавляется. Пи-

щевые ХС и ТГ, проходя через ворсинки тонкого кишечника, с помощью хиломикронов транспортируются в лимфу, кровь и печень.

Синтезируемый в печени эндогенный ХС обеспечивает потребность в нем органов и тканей, прежде всего, самой печени, которая является его основным «производителем» и «потребителем». Известно, что средний период полужизни гепатоцитов составляет 100 дней, поэтому в печень должно поступать достаточно ХС для построения мембран собственных клеток.

Триглицериды образуются из глицерина и жирных кисло и являются источником энергии для скелетной мускулатуры, сердечной мышцы и других органов. Они присутствуют в пищевых жирах и могут синтезироваться в печени, а также в жировой ткани из углеводов, обеспечивая организм дополнительной энергией при усиленных нагрузках.

Способность организма животных и человека запасать полисахариды ограничена, поэтому глюкоза, поставляемая в излишних количествах, служит строительным материалом для синтеза жирных кислот и глицерина, которые превращаются в триглицериды и откладываются в жировых тканях. ТГ содержат насыщенные (двойные связи отсутствуют), и ненасыщенные (двойные связи присутствуют) жирные кислоты. Насыщенные ЖК обладают атерогенными свойствами, содержатся в животных жирах, кокосовом масле. Неатерогенные ненасыщенные кислоты содержатся в оливковом, подсолнечном масле и некоторых других растительных маслах.

Фосфолипиды сходны с триглицеридами, только один из остатков жирных кислот замещен форфатом и азотистым основанием.

Метаболизм липидов в организме

Поскольку липиды крови являются гидрофобными соединениями, нерастворимыми в воде и плазме крови, они могут переноситься с током крови только в составе белково-липидных комплексов – липопротеинов (ЛП). Внутри липопротеиновой частицы находится жировая капля (ядро), содержащая триглицериды и холестерин. Жировая капля окружена оболочкой из фосфолипидов и белков. Белки, входящие в состав липопротеина, называются аполипопротеинами (апобелками). Различают несколько классов апопротеинов (апо А, апо В, апо С – до апо G).

Функции апобелков:

- осуществляют транспорт липидов,
- являются лигандами клеточных рецепторов на клетках-мишенях для липопротеинов.

Липопротеины различают по размеру, удельному весу – плотности, подвижности при электрофорезе, содержанию в них ХС, ТГ, составу апопротеинов.

На основании плотности ЛП классифицируют на:

- хиломикроны (ХМ), самая низкая плотность;
- ЛП очень низкой плотности (ЛПОНП);
- ЛП промежуточной плотности (ЛППП);
- ЛП низкой плотности (ЛПНП);
- ЛП высокой плотности (ЛПВП).

Плотность ЛП в основном зависит от содержания в них ТГ, которые обусловливают низкую плотность, и апопротеинов, которые обеспечивают высокую плотность. Наименьшая плотность имеется у *хиломикронов*. Это самые крупные липопротеиновые частицы. ХМ синтезируются в тонком кишечнике из экзогенных пищевых ТГ и ХС. Состоят на 90 % из ТГ, небольшого количества ХС и апо В-48. Их основная функция – транспортирование экзогенных жиров (ТГ и ХС) из кишечника в печень и периферические ткани.

Из кишечника в составе лимфы через грудной проток хиломикроны попадают в кровь и дальше – в мышцы. В мышцах ХМ фиксируются на соответствующих клеточных рецепторах и подвергаются действию фермента липопронеинлипазы – происходит гидролиз ТГ, из ХМ высвобождаются жирные кислоты, которые, окисляясь, могут использоваться для энергетических процессов в мышцах и других клетках, или при избыточном поступлении включаются в жировую ткань – адипоциты.

Хиломикроны, освободившиеся под влиянием липопронеинлипазы от значительного количества ТГ, называются остаточными хиломикронами или ремнантами. Через портальную вену они переносятся в печень, где захватываются гепатоцитами и разрушаются с высвобождением ХС. ХМ не являются атерогенными, поскольку из-за больших размеров не могут проникать внутрь сосудистой стенки, однако ремнанты атерогенны.

ЛПОНП синтезируются в печени и содержат более 50 % ТГ и ХС, 5 апо, главные из которых В-100, С, Е. Они выполняют ту же функцию, что и ХМ – обеспечение энергией мышечных клеток, но синтезируются в печени из эндогенных источников. Из печени они попадают в кровоток, где под действием липопротеинлипазы трансформируются в ремнантные частицы (ЛППП) после извлечения из них ТГ. Затем ЛППП снова попадают в печень. В отличие от хиломикронных ремнантов, ЛППП не разрушаются, а после снижения в них концентрации ТГ уплотняются и превращаются в ЛПНП.

ЛПНП синтезируются из ЛППП в печени и являются основным источником ХС (до 70 % общего ХС плазмы крови). Физиологическая роль ЛПНП заключается в транспорте холестерина его потребителям – надпочечникам и другим эндокринным органам, ЦНС, печени. В состав ЛПНП

входит единственный апобелок В-100, который распознается рецепторами на клетках-мишенях и ими захватывается.

ЛПНП является основным атерогенным классом ЛП. Метаболизм ЛПНП сопровождается образованием активных форм кислорода и их усиленным окислением и модификацией. Модифицированные ЛПНП воспринимаются организмом как чужеродные элементы. Они захватываются активированными макрофагами, проникают в субэндотелиальное пространство артерий, стимулируют развитие воспалительного процесса и формирование атеросклеротических бляшек. При этом усиливается синтез макрофагами провоспалительных цитокинов. Макрофаги с ЛПНП превращаются в пенистые клетки, которые подвергаются апоптозу. При этом в сосудистой стенке истончается и разрывается фиброзная пластинка, что приводит к образованию тромба, который частично или полностью закрывает просвет сосуда. При тромбозе коронарных сосудов развиваются стенокардия или инфаркт моикарда, при тромбозе сонных артерий – ишемический мозговой инсульт, при тромбозе периферических артерий – перемежающаяся хромота (боли в икроножных мышцах, уменьшающиеся или прекращающиеся при остановке) или гангрена.

ЛПВП имеют наименьший из всех ЛП размер, синтезируются в печени и в меньшей степени в тонком кишечнике, включают фосфолипиды, ХС, апо А, С, Е. ЛПВП, по сравнению с ЛПНП, имеют меньше ХС, но больше фосфолипидов и белка. Основная функция ЛПВП заключается в удалении избытка ХС из артериальной стенки, тканей и органов, перевод его в другие формы или транспортировка в печень, где в составе желчи через кишечник он выводится из организма. Поэтому чем выше уровень ЛПВП в крови, тем меньше вероятность развития А.

Установлена важная роль в патогенезе атеросклероза апопротеинов. Доказано, что апопротеин В, содержащийся в ЛПНП, повышает атерогенные свойства крови, апопротеин А, входящий в состав ЛПВН – увеличивает антиатерогенность ЛПВП.

Таким образом, повышение уровня ЛПНП, увеличение содержания в них ХС, с одной стороны, и понижение концентрации ЛПВП и содержания в них ХС, с другой, создают условия для формирования атеросклеротических бляшек и прогрессирования А, ИБС, ишемической болезни мозга.

Вместе с тем очень низкое содержание ХС в организме чревато неблагоприятными последствиями. Оказалось, что чем выше содержание ХС, тем ниже смертность от злокачественных новообразований. Однако при очень высоком уровне ХС смертность снова начинает расти. Оптимальный уровень ХС в организме находится в пределах 5,51–6,06 ммоль/л, по другим данным – 5,2–5,72 ммоль/л. Ниже и выше указанных значений смертность возрастает: выше – от сердечно-сосудистых

заболеваний, ниже – от злокачественных. В последнее время нормой считается уровень ХС от 5 ммоль/л и ниже.

Типы наследственных гиперлипидемий

Выделяют ряд наследственных гиперлипидемий: I, II А, III, IV типов. Они характеризуются различным соотношением содержания ХС, его фракций и ТГ.

I тип гиперлипидемий характеризуется нарушением лизиса *хиломикронов* в результате отсутствия или дефицита липопротеинлипазы, или генетического дефекта апопротеинов. В результате ХМ не захватываются клетками-мишенями и остаются в крови (аутосомно-рецессивный тип наследования). Частота встречаемости – 1:10000.

ГЛП II А типа (аутосомно-рецессивный тип наследования) возникает из-за замедления распада *ЛПНП* и вследствие этого возникают затруднения элиминации из них ХС. Причиной данного нарушения является патология рецепторного аппарата ЛПНП. Проявляется повышением уровня ЛПНП и ХС, появлением ксантом, преждевременным развитием ИБС и А. Установлено несколько разновидностей мутации гена, кодирующего белок, являющийся рецептором для ЛПНП на клетках-мишенях:

- нулевые аллели, когда на клетках-мишенях полностью отсутствует рецептор к ЛПНП;
- синтезируется рецептор с пониженной способностью связывать ЛПНП;
- синтезируется быстро разрушающийся белок,
- образуется дефектный рецептор, в результате затрудняется поступление ЛПНП внутрь клетки.

Кроме аномалий рецептора к ЛПНП, обнаружена мутация апобелка В, входящего в состав ЛПНП (лиганд для рецептора на клетках-мишенях). ЛПНП с дефектным апо-белком В не способен связываться с рецептором, в результате чего развивается гиперхолестеринемия. В общей популяции встречаются гомозиготные (1:1 000 000) и гетерозиготные (1:200–500) формы заболевания. Клинически у гетерозигот отмечается умеренная гиперхолестеринемия, увеличение фракции ЛПНП, ИБС в 35–45 лет. Наиболее тяжелая гомозиготная форма протекает с выраженной гиперхолестеринемией, повышением ЛПНП, отложением липидов в коже, сухожилиях, роговице, развитием ИБС до 20 лет. Уровень ХС и ЛПНП уже в пупочной вене новорожденного выше нормы, сыворотка прозрачна, уровень ТГ – в норме.

Семейная гиперлипидемия III типа характеризуется аутосомно-рецессивным типом наследования, наличием в плазме повышенного уровня ЛПОНП вследствие замедленного распада аномальных липопротеинов низкой плотности. Дефект вызван мутацией апопротеинов В и Е.

Частым спутником заболевания являются ожирение, сахарный диабет, подагра. Заболевание проявляется в подростковом возрасте и сопровождается ксантомами в области ягодиц, в складках суставов и ладоней.

Семейная гипертриглицеридемия IV типа. Это гетерозиготная форма характеризуется аутосомно-доминантным типом наследования и довольно высокой частотой встречаемости – 1:100, гомозиготы не обнаружены. У больных отмечается высокое содержание *ТГ*. Сопровождается ожирением и инсулинрезистентностью, ранним А, ксантоматозом, панкреатитом, артериальной гипертензией, а в последующем – сахарным диабетом II типа.

Таким образом, гиперлипидемии I типа обусловлены хиломикронемией, II типа – увеличением концентрации ЛПНП, III типа – увеличением содержания ЛПОНП, IV типа – отмечены триглицеридемии.

Для описанных моногенных форм ГЛП характерно:

- раннее начало;
- сочетание с ожирением, гиперинсулинизмом;
- клинические проявления в виде ксантоматозов;
- отягощенная наследственность по раннему развитию А.

Для гиперлипидемий характерно наличие *фенокопий*.

Фенокопии – изменения фенотипа под влиянием неблагоприятных факторов среды по проявлению похожие на мутации. В медицине фенокопии – это ненаследственные болезни, сходные с наследственными. Распространенной причиной фенокопий у млекопитающих является действие на беременных тератогенов различной природы, нарушающих эмбриональное развитие плода, генотип при этом не затрагивается. При фенокопиях измененный под действием внешних факторов признак копирует признаки другого генотипа (например, у человека прием алкоголя во время беременности приводит к комплексу нарушений, которые до некоторой степени могут копировать симптомы болезни Дауна).

Фенокопии гиперлипидемий могут быть обусловлены действием факторов внешней среды: курением, нарушениями в пищевом рационе, низкой физической активностью, приемом контрацептивов, социальными стрессами.

Сахарный диабет

Сахарный диабет (СД) – клинический синдром хронической гипергликемии и глюкозурии, обусловленный абсолютной или относительной инсулиновой недостаточностью, приводящий к нарушению обмена веществ, поражению сосудов (различные ангиопатии), нейропатии и патологическим изменениям в различных органах и тканях.

Сахарный диабет распространен во всех странах мира и, по данным ВОЗ, в мире насчитывается более 150 млн больных диабетом. В промышленно развитых странах Америки и Европы распространенность сахарного диабета составляет 5–6 % и имеет тенденцию к дальнейшему повышению, особенно в возрастных группах старше 40 лет.

Наиболее часто встречается сахарный диабет двух типов:

- Инсулинзависимый сахарный диабет (ИЗД I типа)
- Инсулиннезависимый сахарный диабет (ИНЗД II типа)

Инсулинзависимый диабет характеризуется острым началом, инсулинопенией, склонностью к частому развитию кетоацидоза. Чаще диабет I типа встречается у детей и подростков (ранее употреблявшееся название «юношеский диабет»), однако заболеть могут люди любого возраста. Жизнь больных, страдающих этим типом диабета, зависит от экзогенного введения инсулина, в отсутствие которого быстро развивается кетоацидотическая кома.

Установлено, что недостаточность секреции инсулина является одним из факторов, необходимых для развития диабета. Однако механизм инсулиновой недостаточности при ИЗД и ИНЗД различен. При ИЗД масса и размеры поджелудочной железы меньше, чем у лиц, не больных диабетом или страдающих ИНЗД. Количество и объем островков у больных диабетом I типа, а также количество инсулина, вырабатываемого поджелудочной железой, у этих больных снижено по сравнению с нормой и составляет менее 10 % от их количества у здоровых лиц.

Сахарный диабет 1 типа

Сахарный диабет I типа (инсулинзависимый диабет) в зависимости от механизма развития можно подразделить на два подтипа: *аутоиммунный и вирусиндуцируемый*.

Аутоиммунный диабет характеризуется нарушением структуры и функций, а также количества островковых клеток поджелудочной железы. Антитела к *β*-клеткам обнаруживаются до появления клинических признаков диабета и поддерживаются на высоком уровне в течение нескольких лет после начала диабета.

Другие эндокринные аутоиммунные заболевания у диабетиков встречаются в 4–5 раз чаще по сравнению с лицами без диабета. Диабет часто сочетается с аутоиммунным тиреоидитом, диффузным токсическим зобом, обнаруживаются антитела к щитовидной железе, надпочечникам и др. У больных наблюдается явление инсулита (воспаление островковых клеток). Развивается в любом возрасте, чаще у женщин.

Для *вирусиндуцированного диабета* характерно лишь кратковременное образование антител к антигенам островков поджелудочной железы, которые, как правило, исчезают в течение года, однако у них часто

образуются антитела к экзогенному инсулину**.** Этот тип диабета не сочетается с аутоиммунными поражениями других эндокринных органов, развивается в более молодом возрасте (не старше 30 лет), чем аутоиммунный тип, и одинаково часто встречается как у мужчин, так и у женщин.

У человека в патогенезе ИЗД определенная роль отводится вирусу Коксаки В3 и В4, реовирусу 3-го типа, вирусу паротита, цитомегаловирусу и вирусу врожденной краснухи. Роль вирусной инфекции в патогенезе диабета, вероятно, сводится к тому, что вирусы первично инициируют повреждение β-клеток поджелудочной железы, а именно их мембраны, которая при этом изменяет свои антигенные свойства, благодаря чему активируются аутоиммунные механизмы, вызывая повреждение β-клеток и инсулиновую недостаточность.

Определяющим условием в развитии диабета в таких случаях является генетическая предрасположенность ткани островкового аппарата к повреждению, вызываемому вирусной инфекцией. Как правило, между вирусным заболеванием и началом диабета проходит определенный срок.

Вирусповреждающему действию предшествует повреждение мембраны β-клеток различными химическими веществами в незначительных концентрациях. У лиц с нарушенными репаративными процессами субпороговые концентрации токсических веществ облегчают последующее влияние вирусной инфекции на инициирование аутоиммунных механизмов развития заболевания.

В последние годы показано наличие *медленно прогрессирующей* формы СД I типа, которая характеризуется медленным развитием инсулиновой недостаточности. Больные, страдающие этой формой, в течение 1–3 лет могут соблюдать диету и применять пероральные сахароснижающие препараты, что позволяет компенсировать нарушение углеводного обмена. Однако в последующем возникает резистентность к этим препаратам и для компенсации нарушения углеводного обмена больных переводят на инсулинотерапию. У больных в течение всего заболевания в сыворотке крови выявляются антитела к антигенам островков поджелудочной железы и отмечается прогрессивное снижение секреции инсулина.

Таким образом, независимо от инициирующих факторов и начальных механизмов диабета (вирусиндуцированный, аутоиммунный или медленно прогрессирующий) на последующих этапах в островках поджелудочной железы наблюдается деструкция и прогрессирующее уменьшение количества β-клеток вплоть до полного их исчезновения и развития абсолютной инсулиновой недостаточности.

Генетическая предрасположенность к СД 1 типа. Наследование ИЗД связано с группой генов, которые определяют предрасположенность β-клеток поджелудочной железы к повреждению и обеспечивают рецессивный тип наследования:

1. Гены главного комплекса гистосовместимости (MHC или HLA). MHC – это группа генов и кодируемых ими белков наружной мембраны клеток. Они играют важнейшую роль в распознавании чужеродных для организма антигенов и в развитии иммунного ответа. Сами белки обладают выраженными антигенными свойствами. Антигены комплекса кодируются группой тесно сцепленных генов 6-й хромосомы. Здесь обнаружено 5 локусов: A, B, C, D и DR. Антигены локусов A, B и C проявляются во всех клетках организма, содержащих ядра, антигены локуса D и DR находят в клетках, способных образовать антитела – в B-лимфоцитах и макрофагах. У больных ИЗД часто выявляются два антигена HLA в локусе B: B8 и B15. Одновременное их наличие увеличивает риск заболевания в 8–9 раз, по сравнению с лицами, не имеющих указанных антигенов. В локусе D обнаружены антигены Dw3, Drw3, Dw4 и Drw4, которые также присутствуют у больных ИЗД.

2. Ген инсулина и ген NO-синтазы располагаются рядом, на 11 хромосоме.

3. Ген, кодирующий тяжелую цепь иммуноглобулинов (14-я хромосома).

4. Ген b-цепи Т-клеточного рецептора (7-я хромосома).

5. Гены группы крови Кидд (18-я хромосома).

Сахарный диабет II типа

Сахарный диабет II типа (*инсулиннезависимый диабет*) протекает с минимальными обменными нарушениями, характерными для диабета. Как правило, больные обходятся без экзогенного инсулина и для компенсации углеводного обмена требуются диетотерапия или пероральные препараты, снижающие уровень сахара.

Внешним фактором, способствующим реализации наследственной предрасположенности к этому типу диабета, является переедание, приводящее к развитию ожирения, которое наблюдается у 80–90 % больных, страдающих ИНЗД. При снижении массы тела уровень глюкозы в крови снижается и улучшается ее утилизация. ИНЗД, как и ИЗД, имеет генетическую основу, которая проявляется более отчетливо (значительная частота семейных форм диабета), чем при ИЗД, и характеризуется аутосомно-доминантным типом наследования.

При ИНЗД поджелудочная железа и ее островковый аппарат практически не отличаются от таковых у лиц соответствующего возраста без нарушения углеводного обмена. Островки менее компактны, выявляется дольчатость железы вследствие развития фиброзной ткани, может быть незначительное снижение числа β-клеток. Признаком функциональной недостаточности β-клеток при ИНЗД является уменьшение размера ядер клеток, комплекса Гольджи и эндоплазматической сети. Эти изменения

в разной степени обнаруживаются в поджелудочной железе лиц пожилого возраста при отсутствии нарушения углеводного обмена.

Нарушение толерантности к глюкозе (НТГ). СД II типа, как правило, развивается постепенно. В клиническом течении сахарного диабета можно выделить несколько стадий. Первой из них является нарушение толерантности к глюкозе, латентный или скрытый сахарный диабет, который может не обнаруживаться в течение ряда лет. НТГ проявляется в снижении утилизации глюкозы в тканях организма, не имеет клинических проявлений и определяется только при проведении пробы на толерантность к глюкозе.

Изменения утилизации глюкозы могут быть связаны:

- с возрастом (после 50 лет наблюдается повышение гликемии на 10 мг/% в каждое десятилетие);
- степенью физической активности (физические нагрузки повышают чувствительность тканей к инсулину);
- характером питания (повышенное потребление рафинированных углеводов и низкое потребление клетчатки способствуют нарушению углеводного обмена);
- ожирением (оно предшествует нарушению углеводного обмена);
- характером распределения жира (абдоминальное, центральное ожирение считается фактором риска развития НТГ и СД II типа).

НТГ является нестабильным состоянием, может нормализоваться. Лица с НТГ не являются больными диабетом, однако отмечена их предрасположенность к атеросклеротическим изменениям сосудов, высокая распространенность среди них сердечно-сосудистых заболеваний. ИБС и смертность от нее в 12 раза выше, чем у лиц с нормальной толерантностью к глюкозе.

Инсулинрезистентрость (ИР). Важнейшим эндокринным дефектом при СД II типа является инсулинрезистентрость – снижение чувствительности периферических тканей организма к эндогенному и экзогенному инсулину.

При ИР для достижения нормального биологического эффекта инсулина (состояние нормогликемии) требуются значительно более высокие дозы гормона. В норме поджелудочная железа вырабатывает 30–45 ЕД инсулина в сутки, при состоянии инсулинрезистентности требуется 100–200 ЕД инсулина в сутки.

Инсулинрезистентность может развиваться на различных уровнях:

1. *Пререцепторный уровень.* Происходит нарушение образования инсулина – угнетение секреции инсулина, образование инсулина с нарушенной молекулярной структурой или нарушение процессов конверсии проинсулина в инсулин. Проинсулин обладает незначительной саха-

роснижающей активностью (приблизительно 5–10 % по сравнению с инсулином). Снижается количество глюкозного транспортера (ГЛЮТ-2), который является единственным транспортером глюкозы в *β*-клетках. В условиях хронической гипергликемии снижается секреторный ответ *β*-клеток на стимуляцию повышенным уровнем глюкозы в крови. Подобные нарушения функции *β*-клеток характерны для обоих типов диабета.

2. *Рецепторный уровень.* Нарушение передачи гормонального сигнала от инсулина в клетки, потребляющие глюкозу (клетки периферических тканей, скелетной мускулатуры, миокарда, жировые клетки, гепатоциты), в результате уменьшения на клетках количества рецепторов к инсулину или снижения их аффинности (чувствительности к инсулину).

3. *Пострецепторный уровень.* Нарушение утилизации глюкозы – подавление транспорта глюкозы через мембрану клеток-мишеней вследствие нарушения функции внутриклеточных транспортеров глюкозы (ГЛЮТ-4), которые доставляют глюкозу от клеточной мембраны внутрь клетки. В норме активация глюкозных транспортеров происходит при фосфорилировании инсулиновых рецепторов на клетках периферических тканей. При гипергликемии происходит не фосфорилирование инсулинового рецептора, а его гликозилирование, в результате нарушаются функции глюкозных транспортеров, что приводит к нарушению снабжения глюкозой периферических тканей.

В норме глюкоза проникает внутрь клетки с помощью глюкозных транспортеров. В клетке она превращается в *глюкозо-6-фосфат* при участии фермента гексокиназы. Глюкозо-6-фосфот используется для образования гликогена (запасаемая форма углеводов в печени и мышцах) и в системе гликолиза (запасаемая энергия в форме АТФ и НАДФ).

При гипергликемии увеличивается включение глюкозы во *фруктозо-6-фосфат* и уменьшается доступ глюкозы в систему гликолиза и образование гликогена.

Таким образом, развитие сахарного диабета II типа обусловлено *инсулинорезистентностью (снижение чувствительности тканей к инсулину) и нарушением функции β-клеток*.

Причины ИР при СД II типа двухкомпонентны: *приобретенные и генетические*. *К приобретенным относятся:* возраст, избыточный вес и особенности распределения жира, повышенное артериальное давление, нарушение липидного обмена, общее физическое состояние и тренированность организма, курение, ишемическая болезнь.

Обнаружено более 50 генов, мутации которых могут приводить к развитию болезни. Гены контролируют метаболизм инсулина, структуру и синтез инсулинового рецептора на клетках-мишенях, углеводный, липидный обмен, водно-электролитный гомеостаз, артериальное давление,

иммунные реакции. К диабету могут приводить мутации митохондриальной ДНК, кодирующей ферменты окислительного фосфорилирования.

Осложнения сахарного диабета

Одна из главных причин смерти при сахарном диабете – осложнения со стороны сердечно-сосудистой системы. Они могут проявляться в преимущественном поражении сердца (инфаркт миокарда и кардиомиопатия) или сосудов – ангиопатия (макро- и микроангиопатии).

Диабетическая макроангиопатия характеризуется образованием на интиме артерий крупного и среднего калибра атеросклеротических бляшек, которые могут кальцифицироваться и изъязвляться, способствуя локальному тромбообразованию, сужению просвета сосуда с развитием инфаркта миокарда, нарушений мозгового кровообращения. Причиной смертности почти 50 % больных диабетом является инфаркт миокарда. Характерная его особенность – более частое развитие атипических клинических форм – безболевой или малоболезненной.

Инфаркт часто сочетается с кетоацидозом. Из-за отсутствия инсулина не усваиваются поступающие с пищей белки и углеводы. Для компенсации энергетического голода происходит разрушение собственных мышечных белков и жиров. При этом образуются кетоновые тела и ацетон, происходит интоксикация организма. Диабетический кетоацидоз может привести к инсулиновому шоку и коме.

Атеросклеротическое поражение артерий крупного и среднего калибра у диабетиков и здоровых людей не различаются, однако у больных диабетом они развиваются в более молодом возрасте. Одна из основных причин ангиопатий – гипергликемия, приводящая к повышению проницаемости сосудистой стенки для белков плазмы. Они выходят в экстравазальное пространство, накапливаются в стенках капилляров, артериол и провоцирует сужение просвета сосудов.

Гипергликемия сопровождается усилением обмена глюкозы по сорбитоловому пути с образованием большого количества сорбитола и фруктозы, которые способствуют внутриклеточному накоплению жидкости, отеку и разрыву мембраны клетки с нарушением ее функции и гибели.

Повышенный уровень глюкозы является причиной гликозилирования белков, в результате чего они теряют свои свойства. Белок коллаген отвечает за функциональные свойства базальной мембраны сосудов, в том числе проницаемость сосудистой стенки. Гликозилирование коллагена приводит к увеличению проницаемости сосудов и накоплению вне сосудов гликозилированных альбумина, иммуноглобулинов и иммунных комплексов. Эти соединения воспринимаются иммунной системой как чужеродные для организма и в результате формируется иммунный ответ.

Происходит активация макрофагов, которые продуцируют провоспалительные цитокины (фактор некроза опухолей, интерлейкин-1, интерферон-γ), а также стимулируют пролиферацию эндотелиальных клеток, выработку эндотелием эндотелина-1, обладающего сосудосуживающим действием, что приводит к местному тромбозу. Гликозилирование белков приводит к усилению продукции тромбоцитами тромбоксана, дополнительного сигнала для повышенного тромбообразования и нарушения микроциркуляции.

Таким образом, развивается синдром диффузного внутрисосудистого свертывания.

Дополнительным компонентом, участвующим в патогенезе сосудистых изменений (особенно в крупных сосудах) при сахарном диабете, является нарушение липидного обмена, повышение уровня холестерина, липопротеинов низкой плотности, триглицеридов, а также нарушение обмена апобелков.

Гипергликемия способствует метаболическому стрессу, в результате чего наблюдается повышенное образование свободных радикалов, нарушающих функцию клеточных мембран. При этом снижается активность антиоксидантной системы, представленной глютатионом, супероксиддисмутазой, витаминами Е и С. Диабетическая микроангиопатия становится причиной развития ретинопатии, нейропатии.

Нарушение кровообращения в пораженных сосудах нижних конечностей ведет к трофическим изменениям кожи голени и стопы, а также гангрене, локализующейся в первую очередь в области 1 пальца. Характерно для диабета развитие сухой гангрены с незначительно выраженным болевым синдромом или его отсутствием. Поражение нижних конечностей при диабете носит название синдрома диабетической стопы, развитие которого обусловлено патологическими изменениями периферической и автономной нервной системы, артериального и, в большей степени, микроциркуляторного кровообращения.

Словарь терминов

Аллель – одно из состояний гена, возникшее за счет мутаций. Аллели одного гена отличаются по своему проявлению в фенотипе.

Амплификация генов – множественная репликация выбранных последовательностей ДНК вне хромосомы (ПЦР) или внутри хромосомы (в векторе).

Антионкогены – класс генов, которые обеспечивают регуляцию нормального роста клеток.

Антисенсы – олигонуклеотиды, которые блокируют комплементарные участки ДНК или РНК.

Апоптоз – регулируемый процесс программируемой клеточной гибели, в результате которого клетка распадается на отдельные апоптические тельца, ограниченные плазматической мембраной.

Атеросклероз – хроническое заболевание, характеризующиеся возникновением в стенках артерий очагов липидной инфильтрации и разрастанием соединительной ткани с образованием фиброзных бляшек.

Бактериофаг (фаг) – вирус, заражающий бактерии.

Болезнь Гентингтона – прогрессирующее наследственное заболевание центральной нервной системы.

Болезнь Коновалова–Вильсона – нарушение метаболизма меди, приводящее к наследственным болезням центральной нервной системы и внутренних органов.

Вектор – рекомбинантная ДНК, вирус, бактерия или плазмида, несущие встроенный фрагмент чужеродной ДНК.

Взаимодействие генов – появление новых фенотипов вследствие взаимодействия аллелей или различных генов.

Галактоземия – наследственная ферментопатия, характеризующаяся нарушением метаболизма галактозы.

Гемоглобинопатии – группа наследственных заболеваний, обусловленных наличием в эритроцитах аномальных гемоглобинов либо угнетением синтеза полипептидных цепей нормальных гемоглобинов.

Гемофилия А – наследственное заболевание, обусловленное дефицитом плазменного фактора свертывания VIII.

Генетическая антиципация – прогрессирующее усиление симптомов наследственного заболевания, а также снижение возраста начала заболевания в последующих поколениях.

Генетический полиморфизм – стабильное существование в популяции двух или более разных генотипов.

Генная инженерия – методы изменения генотипа клетки или особи путем избирательного удаления или замещения отдельных генов или группы генов.

Генная терапия – отрасль молекулярной медицины, основанная на введении в клетку чужеродного генетического материала с целью исправления генных дефектов, придания клеткам новых функций.

Геном – совокупность всех генов особи.

Геномный импринтинг – эпигенетический механизм регуляции экспрессии гомологичных генов в онтогенезе в зависимости от родительского происхождения гена, хромосомы или генома.

Генотип – специфические аллели и гены организма.

Гетеродуплекс – двуспиральная молекула ДНК, каждая из цепей которой имеет разное происхождение.

Гетерохроматин – окрашенные, поздно реплицирующиеся, конденсированные в интерфазном ядре участки хромосом, как правило, не содержащие структурных генов.

Гибрид – особь от скрещивания между различными генотипами.

Гиперхолестеринемия – повышенный уровень содержания в крови холестерина.

Гомозигота – особь или клетка, имеющая в генотипе два одинаковых или даже идентичных по происхождению аллеля данного гена.

Гетерозигота – клетка или организм, имеющие в генотипе разные аллели по данному гену.

Группа сцепления – группа генов, локализованных в одной хромосоме.

Делеция – потеря участка хромосомы или гена.

Дефицит глюкозо-6-фосфатдегиброгеназы – наследственная недостаточность фермента, приводящая к индуцируемому лекарственными препаратами гликолизу эритроцитов.

ДНК-вакцины – чистая ДНК, кодирующая нуклеопротеин вируса или бактерии и заключенная в плазмиду.

Доминирование – экспрессия одного из признаков (доминантного) в фенотипе гетерозиготы.

Дупликация – удвоение участка хромосомы или гена.

Зигота – диплоидная клетка, образованная в результате слияния гаплоидных гамет.

Инверсия – хромосомная перестройка, когда на определенном участке гены расположены в обратном порядке по отношению к гомологичной хромосоме.

Инициирующий кодон – триплет нуклеотидов АУГ в молекуле иРНК, кодирующий аминокислоту метионин – первую аминокислоту полипептидной цепи.

Инсулин – гормон поджелудочной железы, регулирует углеводный обмен в организме.

Интроны – транскрибируемые участки ДНК между кодирующими последовательностями (экзонами), которые отсутствуют в зрелой мРНК.

кДНК – ДНК, синтезируемая на матрице РНК с помощью обратной транскриптазы.

Клон – идентичные молекулы, клетки или организмы, производные одного предшественника.

Кодон – триплет нуклеотидов, кодирующий одну аминокислоту.

Конъюгация – временное слияние двух одноклеточных организмов для передачи генетического материала.

Локус – хромосомный сайт, содержащий определенный ген.

Метилирование ДНК – модификация молекулы ДНК без изменения нуклеотидной последовательности.

Миодистрофия Дюшенна – наследственное заболевание, которое характеризуется прогрессирующей мышечной слабостью, атрофией и псевдогипертрофией проксимальных мышц.

Миотоническая дистрофия – наследственное многосистемное заболевание, главные клинические проявления: миотония, мышечная слабость, катаракты, аритмии сердца, облысение со лба, нарушенная толерантность к глюкозе, умственная отсталость.

Митохондриальные болезни – группа наследственных заболеваний, которые вызваны структурными, генетическими или биохимическими дефектами митохондрий.

Множественные аллели – три или более аллелей одного гена.

Мозаизм хромосомный – одновременное присутствие у индивидуума клеток с различным числом хромосом.

Моносомия – анеуплоидия с потерей одной из гомологичных хромосом.

Мутация – изменение в молекуле ДНК или в структуре хромосом, источник множественного аллелизма.

Муковисцедоз – наследственное заболевание, характеризующееся поражением желез внешней секреции, тяжелыми нарушениями функций органов дыхания и желудочно-кишечного тракта.

Мукополисахаридозы – группа заболеваний, сопровождающихся накоплением кислых мукополисахаридов в органах и тканях.

Мышечная дистрофия Дюшенна – наследственное заболевание, обусловлено мутацией гена дистрофина, кодирующего белок мышечных клеток.

Некодирующая ДНК – большая часть эукариотического генома с неизвестными функциями, лишенная активных генов.

Нейрофиброматоз I типа – наследственное заболевание, в основе которого лежит развитие опухолей (нейрофибром) из нервной ткани в центральной нервной системе и на периферических нервах.

Нокаутированные мыши – мыши, полученные генно-инженерными методами в результате инактивации нормального гена.

Нонсенс-мутация – триплет нуклеотидов в молекуле иРНК, определяющий окончание трансляции. Кодоны УГА, УАГ, EFF.

Нулисомия – потеря двух гомологичных хромосом.

Обратная транскриптаза – РНК-полимераза, синтезирующая однонитевую ДНК на матрице молекулы РНК.

Оператор – участок молекулы ДНК, взаимодействующий со специфичным белком-репрессором, который контролирует экспрессию соседнего гена или группы генов.

Оперон – генетическая единица у прокариот, состоящая из одного или более структурных генов и оператора, контролирующего транскрипцию этих генов.

Пенетрантность – частота или вероятность проявления аллеля определенного гена у разных особей родственной группы организмов.

Пигментная ксеродерма – наследственное заболевание, обусловленное повышенной чувствительностью кожи к солнечной радиации и УФ-лучам.

Плазмида – внехромосомная кольцевая молекула ДНК, которая реплицируется независимо от хромосом хозяйской клетки.

Праймер (затравка) – короткая последовательность РНК или одноцепочечной ДНК, необходимая для синтеза двухцепочечной ДНК ДНК-полимеразой.

Промотор – регуляторная последовательность ДНК, участок связывания с РНК-полимеразойдо начала транскрипции.

Протоонкоген – ген, контролирующий нормальную пролиферацию или дифференцировку клеток, в результате соматической мутации или транспозиции может превращаться в онкоген.

Рамка считывания – линейная последовательность кодонов в молекуле ДНК.

Рекомбинантная ДНК – молекула ДНК, образованная из двух или нескольких гетерологичных молекул.

Ретровирус – РНК-содержащий вирус, использующий для синтеза кДНК обратную транскриптазу.

Рецессивный аллель – аллель, который не экспрессируется в гетерозиготном состоянии.

Рибозимы – антисмысловые молекулы РНК, обладающие ферментативной активностью.

Сайленсер – последовательность ДНК, с которой связываются белки-репрессоры (факторы транскрипции). Связывание белков-репрессоров с сайленсерами приводит к понижению или к полному подавлению синтеза РНК.

Сателлитная ДНК – фракция ДНК, формирующая минорные полосы при центрифугировании в градиенте плотности хлорида цезия. Состоит из коротких многократно повторяющихся последовательностей.

Сахарный диабет I типа – заболевание эндокринной системы, характеризующееся абсолютной недостаточностью инсулина.

Сахарный диабет II типа – заболевание, развивающееся в результате нарушения чувствительности тканей организма к инсулину.

Серповидно-клеточная анемия – наследственное заболевание системы крови, развивающееся в результате нарушения пространственной структуры гемоглобина.

Синдром – комплекс признаков и симптомов, характеризующих болезнь.

Синдром Ангельмана – генетическое заболевание, для которого характерны психическая задержка развития, судорожные припадки, нарушения сна, хаотичные движения рук, частый смех и практически постоянная улыбка.

Синдром Кляйнфельтера – генетическое заболевание, характеризующееся дополнительной женской половой хромосомой X в мужском кариотипе XY.

Синдром Марфана – наследственное заболевание соединительной ткани, характеризующееся разнообразными проявлениями скелетной, сердечно-сосудистой и глазной патологии.

Синдром Мартина–Белл – синдром умственной отсталости, сцепленной с ломкой хромосомой X.

Синдром Прадера–Вилли – наследственное заболевание с широким спектром признаков, к которым относят ожирение в сочетании с низким ростом, сниженным интеллектом и снижением функции половых желез.

Синдром трисомии по X – генетическое заболевание, характеризующееся наличием дополнительной X-хромосомы в женском кариотипе XX.

Синдром Шерешевского–Тернера – генетическое заболевание, моносомия по X хромосоме.

Сплайсинг – процесс вырезания определенных нуклеотидных последовательностей из молекул РНК.

Структурный ген – ген, кодирующий аминокислотную последовательность или полипептидную цепь.

Суицидные гены – ген, продукт которого в определенных условиях вызывает гибель собственной клетки.

Сфинголипидозы – группа лизосомных болезней накопления, связанных с нарушением метаболизма сфинголипидов, относится к классу болезней накопления липидов (липидозов)

Талассемии – наследственное заболевание системы крови, развивающееся в результате нарушения синтеза полипептидных цепей, входящих в состав гемоглобина.

Транскрипция – перенос генетической информации с ДНК на РНК.

Трансформация – генетическое изменение клетки под влиянием чужеродной ДНК.

Трисомия – наличие трех гомологичных хромосом в кариотипе.

Фармакогенетика – наука, изучающая роль генетических факторов в формировании фармакологического ответа организма человека на лекарственные средства.

Фармакодинамика – раздел фармакологии, изучающий локализацию, механизм действия и фармакологические эффекты лекарственных средств, силу и длительность их действия.

Фармакокинетика – раздел фармакологии, изучающий кинетические закономерности химических и биологических процессов, происходящих с лекарственным средством в организме млекопитающего.

Фенилкетонурия – наследственное заболевание человека, в результате которого проявляется неспособность утилизировать аминокислоту фенилаланин из-за отсутствия фермента фенилаланингидроксилазы.

Фенокопии – изменения фенотипа под влиянием неблагоприятных факторов среды, по проявлению похожие на мутации.

Фенотип – наблюдаемые признаки и свойства организма, которые контролируются генетически.

Химера – организм или часть организма, состоящие из генетически разнородных тканей.

Хроматида – одна из продольных субъединиц реплицированной хромосомы, соединенная с сестринской хроматидой в районе центромеры.

Хроматин – комплекс ДНК, РНК, гистонов и негистоновых белков, образующий неконденсированные хромосомы в интерфазнфх ядрах.

Хромосома – у прокариот интактная молекула ДНК, содержащая клеточный геном. У эукариот – комплекс ДНК, РНК и белков, формирующих линейно организованную последовательность нитевидной структуры, которая видна в митозе и мейозе.

Энхансер – небольшой участок ДНК, способный связываться с факторами транскрипции, увеличивая уровень транскрипции гена или группы генов.

Эпигенетическая регуляция – наследственные и ненаследственные изменения экспрессии гена без каких-либо структурных изменений в его нуклеатидной последовательности.

Эухроматин – неконденсированный, слабо окрашенный хроматин в интерфазном ядре, содержащий структурные гены.

Эффект положения – изменение действия гена при изменении его положения в хромосоме в результате хромосомных перестроек (инверсий, делеций, транслокаций).

СПИСОК БИБЛИОГРАФИЧЕСКИХ ИСТОЧНИКОВ

1. *Бочков Н. П.* Клиническая генетика. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2011. – 448 с.

2. *Сингер М., Берг П.* Гены и геномы. – М.: Мир, 1998.

3. *Клаг У. С., Каммингс М. Р.* Основы генетики. – М.: Техносфера, 2009. – 89 с.

4. *Горбунова В. Н., Баранов В. С.* Введение в молекулярную диагностику и генотерапию наследственных заболеваний. – СПб : Специальная литература, 1997. – 287 с.

5. Введение в молекулярную медицину / под ред. М. А. Пальцева. – М.: Изд-во «Медицина», 2004. – 496 с.

6. *Патрушев Л. И., Минкевич И. Г.* Проблема размера геномов эукариот // Успехи биологической химии. – 2007. –Т. 47. – С. 293–370.

7. *Зеленин А. В.* Генная терапия на границе третьего тысячелетия // Вестник Российской академии наук. – 2001. – Т. 71, № 5. – С. 387–395.

8. *Баранов В. С., Баранова Е. В.* Жить в гармонии со своими генами // Природа. – 2004. – № 12.

9. Молекулярная биология клетки: в 3 т. Т. 3 / Б. Альбертс, А. Джонсон, Д. Льюис и др. – М.; Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика»; Институт компьютерных исследований, 2013. – 1028 с.

10. *Назаренко Г. И., Журавлев Ю. И., Рязанов В. В. и др.* Прогнозирование риска развития ишемического инсульта на основе генетических [ApoE (ε2, ε3, ε4), ACE (I/D), MTHFR (677C>T)] и негенетических факторов с применением современных методов теории распознавания по прецедентам // Молекулярная медицина. – 2015. – № 1. – С. 55–60.

11. *Ильина Т. С.* Нитчатые бактериофаги и их роль в вирулентности и эволюции патогенных бактерий // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2015. – № 1. – С. 3–10.

12. ПЦР в реальном времени / под ред. Д. В. Ребрикова. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. – 223 с. URL: http://e.lanbook.com/view/book/8804/).

СОДЕРЖАНИЕ

Введение 3
Лекция 1. Эпигенетические нарушения экспрессии генов 5
Геномный импринтинг и наследственная патология 6
Общие представления о геномном импринтинге 6
Механизмы геномного импринтинга 7
Синдромы Прадера–Вилли и Ангельмана 9
Клиническая характеристика синдрома Прадера–Вилли 9
Клиническая характеристика синдрома Ангельмана 10
Формы молекулярной патологии хромосомного района 15(q11–q13), вызывающие СПВ и СА 10
Эффект положения и генетическая патология 11
Наследственные заболевания, связанные с эффектом положения 14
Лекция 2. Молекулярные механизмы канцерогенеза 14
Клеточные онкогены 16
Гены-супрессоры опухолевого роста 17
Двухударная модель канцерогенеза 18
Эпигенетическая регуляция экспрессии генов в опухоли 19
Лекция 3. Основы клинической фармакогенетики 20
Генетические факторы, влияющие на фармакокинетику лекарственных средств 21
Генетический полиморфизм бутирилхолинэстеразы (псевдохолинэстеразы) 22
Генетический полиморфизм ацетилирования лекарственных средств 23
Генетический полиморфизм метилирования лекарственных средств 24
Генетический полиморфизм глюкуронирования лекарственных средств 24
Генетические факторы, влияющие на фармакодинамику лекарственных средств 25
Недостаточность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы 25
Фармакогенетика злокачественной гипертермии 27
Витамин-Д-резистентный рахит 28
Лекция 4. Генная терапия 29
Соматическая генная терапия 30
Векторная система переноса генетической информации 30
Лечение комбинированного иммунодефицита 31
Генная терапия ex vivo 32
Ограничения использования ретровирусов 33
Генная терапия при лечении инфекционных заболеваний 34
Антисмысловые нуклеотидные последовательности как инструмент регуляции экспрессии генов 34
Рибозимы: механизм действия и применение в лечении вирусных заболеваний 37
Генные технологии в иммунотерапии. ДНК-вакцины 38
Тканеспецифическая генотерапия. Суицидные гены 38

Лекция 5. Патогенетическая роль повторяющихся последовательностей генома человека 40
Кодирующие тринуклеотидные повторы и болезни экспансии 40
Болезни экспансии полиглутаминовых повторов. Болезнь Гентингтона 40
Тандемные некодирующие повторы 42
Болезни экспансии некодирующих коротких тандемных повторов 42
Синдром Мартина–Белл (синдром ломкой Х-хромосомы, FRAXA) 43
Миотоническая дистрофия, тип 1 (МД1) 44
Лекция 6. Моногенные наследственные заболевания 46
Аутосомно-доминантные болезни 46
Заболевания, обусловленные дефектами клеточных рецепторов и их лигандов. Гиперхолестеринемия 48
Заболевания, обусловленные нарушением синтеза, или структуры ключевых структурных белков 49
Нейрофиброматоз 1 типа 50
Аутосомно-рецессивные болезни 50
Заболевания, вызванные нарушениями в генах, кодирующих транспортные белки . 51
Заболевания, возникающие в результате мутации в генах репарирующей системы ДНК 53
Заболевания, возникающие при мутации генов, кодирующих ферменты обмена веществ 54
Гемоглобинопатии 59
Болезни с Х-сцепленным рецессивным типом наследования 60
Дефицит глюкозо-6 фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) 61
Гемофилия А 62
Гемофилия В 63
Миодистрофия Дюшенна (МД) 63
Лекция 7. Заболевания, в основе которых лежат мутации митохондриальных генов 65
Лекция 8. Гонадальный мозаизм 67
Хромосомальный мозаизм 67
Лекция 9. Полигенные многофакторные болезни 70
Атеросклероз 70
Липиды, принимающие участие в формировании атеросклероза 71
Метаболизм липидов в организме 72
Типы наследственных гиперлипидемий 75
Сахарный диабет 76
Сахарный диабет 1 типа 77
Сахарный диабет II типа 79
Осложнения сахарного диабета 82
Словарь терминов 84
Список библиографических источников 91

Учебное издание

Житкевич Татьяна Ивановна

МОЛЕКУЛЯРНАЯ МЕДИЦИНА:
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ
ГЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Курс лекций

Редактор *Л. М. Кореневская*
Компьютерная верстка *Д. В. Головач*
Техническое редактирование *А. В. Красуцкая*

Подписано в печать 19.06.2018. Формат 60×90 1/16.
Бумага офсетная. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 5,88. Уч.-изд. л. 5,1.
Тираж 100 экз. Заказ № 201.

Республиканское унитарное предприятие «Информационно-
вычислительный центр Министерства финансов Республики Беларусь».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий
№ 1/161 от 27.01.2014, № 2/41 от 29.01.2014.
Ул. Кальварийская, 17, 220004, г. Минск.