

Н.В. ГРИЩЕНКО¹, А.М. БЫЧКОВА², А.Б. ЛИВШИЦ¹,
С.А. КРАВЧЕНКО¹, В.Н. ПАМПУХА¹, А.А. СОЛОВЬЕВ¹,
А.М. КУЧЕРЕНКО¹, П.Ф. ТАТАРСКИЙ¹,
Н.А. АФАНАСЬЕВА³, Е.В. ДУБРОВСКАЯ⁴,
Э.И. ПАЦКУН⁵, Н.О. ЗИМАК-ЗАКУТНАЯ⁶,
Т.В. НИКИТЧИНА⁴, С.Ю. ЛОГУШ⁷, Л.А. ЛИВШИЦ¹

¹ Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев
E-mail: livshits@imbg.org.ua

² Научный центр радиационной медицины НАМН Украины, Киев

³ Крымский медико-генетический центр, Симферополь

⁴ Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины, Киев

⁵ Закарпатский медико-генетический кабинет, Ужгород

⁶ Областной медико-генетический центр, Хмельницкий

⁷ Институт наследственной патологии НАМН Украины, Львов

КЛИНИКО-ГЕНЕАЛОГИЧЕСКОЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПАЦИЕНТОВ С УМСТВЕННОЙ ОТСТАЛОСТЬЮ



Представлены результаты исследования 113 пациентов с различными формами умственной отсталости из 96 семей, проживающих в Украине, которое проводилось в рамках международного проекта SHERISH 7-й рамочной программы. Цель научного проекта — улучшение диагностики умственной отсталости у детей в странах Центральной и Восточной Европы путем детального анализа известных хромосомных и генных перестроек, а также поиск новых генов-кандидатов, приводящих к развитию умственной отсталости. У всех пациентов выявлен нормальный хромосомный набор (46XY или 46XX) и молекулярно-генетически исключен синдром ломкой X-хромосомы. По результатам молекулярного цитогенетического исследования выявлены различные геномные реорганизации (вариации числа копий генов) у 28 пациентов, из них 11 — впервые выявленные варианты. Полученные результаты свидетельствуют о высокой генетической гетерогенности наследственных форм умственной отсталости.

© Н.В. ГРИЩЕНКО, А.М. БЫЧКОВА, А.Б. ЛИВШИЦ,
С.А. КРАВЧЕНКО, В.Н. ПАМПУХА, А.А. СОЛОВЬЕВ,
А.М. КУЧЕРЕНКО, П.Ф. ТАТАРСКИЙ,
Н.А. АФАНАСЬЕВА, Е.В. ДУБРОВСКАЯ, Э.И. ПАЦКУН,
Н.О. ЗИМАК-ЗАКУТНАЯ, Т.В. НИКИТЧИНА,
С.Ю. ЛОГУШ, Л.А. ЛИВШИЦ, 2012

Введение. Умственная отсталость (УО) — это обобщенное понятие, включающее разнородные с клинической точки зрения явления [1]. Все эти различные состояния объединяют выявленные в раннем возрасте (в период формирования психики) нарушения адаптивного поведения, связанные с недостаточным развитием познавательных способностей [2]. Термин «умственная отсталость» включает в себя все клинические и патогенетические варианты возникшего в раннем возрасте интеллектуального дефекта. УО встречается у 2–3 % населения [2].

Установлено, что существуют две принципиально различные группы этиологических факторов, ответственных за формирование умственной отсталости. Первая группа, обуславливающая более тяжелую умственную отсталость (интеллектуальный коэффициент (IQ) меньше 50 баллов), включает в себя факторы, которые значительно дезорганизуют формирование структуры и функции головного мозга. Это и экзогенные факторы (тяжелые травмы мозга, нейроинфекции), и генетические факторы (70–80 % случаев тяжелой умственной отсталости связано с генетическими нарушениями) [3]. Вторая группа этиологических факторов связана с более легкой умственной отсталостью (IQ между 50 и 70 баллами) и включает неблагоприятные экологические факторы (состояние внешней среды, т.е. воздействие загрязняющих веществ и радиоактивного заражения, состояние питания, социально-экономический уровень семьи, в том числе педагогическая запущенность в неблагополучных семьях). Возможен и сочетанный вариант — неблагоприятные условия внешней среды в комплексе с генетической предрасположенностью (мультифакторные заболевания) [4].

В базе данных OMIM — Online Mendelian Inheritance in Man® — генетические нарушения представлены хромосомными aberrациями, нарушениями хромосомного набора (самой распространенной хромосомной аномалией является синдром Дауна — трисомия по 21-й хромосоме) и генными мутациями [5].

Хромосомные аномалии, выявляемые рутинными цитогенетическими методиками, регистрируют у 25 % больных с умственной отсталостью. Новые технологии, такие как серийная сравнительная геномная гибридизация, или array-CGH (genome-wide microarray comparative genomic hybridization), основанная на использовании генетических микрочипов, позволяют выявить «микрo-аномалии генома» еще у 10–20 % пациентов [6–8].

Установлено, что генные мутации приводят к возникновению моногенных форм умственной отсталости с различными типами наследования: аутосомно-доминантным, аутосомно-рецессивным, X-сцепленным [9]. Выделяют моногенную синдромальную умственную отсталость, которая сочетается с другими заболеваниями и пороками развития, и несиндромальную, не связанную с другими нарушениями. В настоящее время известно около тысячи наследственных заболеваний, которые сопровождаются умственной отсталостью или для которых умственная отсталость является основным проявлением [10].

В 2007 г. был введен термин для описания нового типа полиморфизма генома человека – вариации числа копий генов (Copy Number Variants – CNVs), которые возникают в результате геномных перестроек типа делеций/дупликаций размером более 1 т.п.н. [11]. В настоящее время для более чем 3000 генов показано наличие CNVs [12], что составляет 10 % общего количества генов человека. Большинство из этих CNVs не являются патогенными и представляют собой варианты нормы. Однако при некоторых патологиях показан так называемый «эффект дозы гена», который возникает в результате наличия у пациента патогенных CNVs. Развитие умственной отсталости довольно часто связывают с наличием патогенных CNVs.

Наиболее эффективным современным скринирующим методом для выявления патогенных CNVs является анализ с ис-

пользованием array-CGH высокого разрешения.

Цель международного научного проекта CHERISH 7-й рамочной программы – улучшение диагностики умственной отсталости у детей в странах Центральной и Восточной Европы с помощью детального анализа известных хромосомных и генных перестроек, приводящих к развитию УО, а также поиск новых генов-кандидатов УО. В проекте принимают участие ученые из научных организаций девяти стран (Италия, Кипр, Польша, Чехия, Эстония, Литва, Украина, Россия и Армения), он рассчитан на три года и финансируется Еврокомиссией. Для выполнения проекта создан научный консорциум, состоящий из представителей научных организаций биологического и медицинского профиля в странах – участниках проекта. Украина в проекте представлена отделом геномики человека Института молекулярной биологии и генетики Национальной академии наук Украины. В проекте также участвуют клинические генетики из Государственного учреждения «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины» (Киев), Государственного учреждения «Научный центр радиационной медицины НАМН Украины» (Киев), Львовского, Закарпатского, Хмельницкого и Крымского медико-генетических центров.

В каждой из организаций проводился отбор пациентов с УО, их клинический, цитогенетический и молекулярно-генетический анализ с целью установления точного диагноза и поиска молекулярно-генетических причин патогенеза у каждого конкретного пациента.

Материалы и методы. От всех семей было получено информированное согласие на участие в настоящем проекте в соответствии с международными нормами по биоэтике и законами, принятыми в каждой из стран-участниц. Исследование также одобрено биоэтическим комитетом ИМБГ НАН Украины.

Для сбора и анализа информации о больных и их семьях консорциумом был разработан специальный опросник, который включал в себя несколько разделов: паспортные данные, семейный анамнез и родословную, историю протекания беременности и неонатального периода у пробанда, данные о развитии ребенка, антропометрические данные, результаты общего клинического обследования и анализа фенотипа, а также психопатологического и патопсихологического обследований (определение коэффициента интеллекта), данные инструментальных обследований (в том числе КТ и ЯМР-обследование головного мозга, ЭЭГ, ЭХО-ЭГ и др.), данные цитогенетических, молекулярно-генетических и биохимических обследований.

Клиническое обследование. Проведено клинико-генеалогическое и антропометрическое обследование, анализ фенотипа, психопатологическое и патопсихологическое обследование (определение коэффициента интеллекта – IQ [13]).

Отбор семей осуществлялся по следующим критериям: 1) наличие в семье одного и больше больных с недифференцированной умственной отсталостью ($IQ \leq 70$ баллов); 2) отсутствие у больных известных хромосомных мутаций или клинических синдромов (синдром Дауна и др.) и генетически обусловленных биохимических нарушений (фенилкетонурия и др.); 3) отсутствие у больных генных мутаций в локусах FRAXA, FRAXE, FRAXF.

Сбор биологического материала. У больных с УО и всех доступных для анализа родственников провели забор образцов периферической крови для дальнейшего анализа (цитогенетического, молекулярно-генетического и работы с клеточными культурами). Семьи с несколькими больными, у которых не выявлены известные клинические фенотипы, отобрали для биобанка с использованием клеточных линий лейкоцитов периферической крови представителей этих семей (38 образцов крови из 9 семей). Для этой цели образцы крови были

подвергнуты криоконсервации и в настоящее время хранятся в жидком азоте.

Цитогенетическое исследование. Всем пациентам провели цитогенетическое исследование на материале крови. Исследования на начальном этапе осуществляли классическим полумикроскопическим методом с последующим кариотипированием (G-banding, 500–800 bend). Анализировали 29 метафазных пластинок. Молекулярно-цитогенетическое исследование хромосомных перестроек типа делеции/дупликации выполняли с использованием array-CGH технологии высокого разрешения 44K (44 000 зондов) и 105K (105 000 зондов). Настоящее исследование проводилось в организациях – партнерах проекта из ЕС (на Кипре и в Италии).

Молекулярно-генетическое исследование. Из образцов крови всех пациентов и их родственников ДНК выделяли стандартным методом с использованием фенольно-хлороформной экстракции [14]. Растворы ДНК хранили при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Всем пробандам с УО провели молекулярно-генетическое исследование количества CGG-повторов в промоторных областях генов *FMR1* и *FMR2* согласно методикам, описанным ранее [15–17]. У пробандов мужского пола также был осуществлен анализ метилирования в локусах FRAXA, FRAXE, FRAXF для исключения наиболее частой моногенной X-сцепленной формы УО (синдром ломкой X-хромосомы) с использованием метилчувствительной полимеразной цепной реакции согласно описанному ранее протоколу с собственными модификациями [15, 18].

В 28 семьях пробандам проведено исследование субтеломерных геномных перестроек в локусах, ассоциированных с УО, с помощью количественной мультиплексной лигазной пробозависимой амплификации (количественная MLPA). Упомянутый анализ проводили с использованием коммерческого набора SALSA MLPA kit Telo-merge-5 для MLPA производства MRC-Hol-

land (Нидерланды). Последующее электрофоретическое разделение фрагментов осуществляли на секвенаторе ABI 3100 («Applied Biosystems», США) и анализировали с помощью программного обеспечения Peak Scanner Software v.1.0 («Applied Biosystems», США).

Биоинформационный анализ. Выявленные геномные реорганизации анализировали с использованием биоинформационных ресурсов баз данных DECIPHER v5.1 (<https://decipher.sanger.ac.uk/>), ENSEMBL (<http://may2009.archive.ensembl.org/index.html>), Database of Genomic Variants (<http://projects.tcag.ca/variation/>).

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

Характеристика украинской группы семей с УО

Образцы ДНК (всего)	270
Больные с УО	113
Здоровые члены семьи	157
Семьи	95
Семейные случаи	
синдромальные	3
несиндромальные	13
Спорадические случаи	
синдромальные	7
несиндромальные	72

По результатам цитогенетического исследования 113 пациентов получены следующие данные: все пациенты имели нормальный хромосомный набор (46XY или 46XX); у двух пациентов выявлены хромосомные перестройки.

У пациента 031S – 46,XY,del(5)(q15q22) или del(5)(q13q15), у пациентки 057B – 46,XX,der(10). Обе выявленные перестройки были в дальнейшем уточнены при молекулярно-цитогенетическом исследовании

с использованием 44К CGH-микрочипов. У обоих пациентов выявлена тяжелая форма УО (IQ 40–43 балла) в сочетании с различными скелетными аномалиями и лицевыми дисморфизмами.

Анализ субтеломерных перестроек типа делеции/дупликации с помощью MLPA был проведен 31 пробанду с УО. У шести пациентов выявлены различные хромосомные перестройки (табл. 1).

Поскольку в двух случаях были выявлены хромосомные перестройки у фенотипически здоровых сибсов, в то время как эти же перестройки не были обнаружены у больных пробандов из исследованных семей, можно предположить, что эти геномные реорганизации могут не затрагивать, по-видимому, функционально значимые участки генома и представлять собой нормальные CNVs.

Остальные результаты MLPA-анализа у трех пробандов больных с УО требуют более детализированного анализа для определения роли упомянутых хромосомных перестроек в патогенезе УО.

По результатам молекулярно-генетического анализа 96 пробандов установлено отсутствие экспансии CGG-повторов гена *FMRI*. Выявлены нормальные аллели гена *FMRI*, содержащие от 14 до 41 CGG-повторов.

Следует, однако, отметить, что у пяти пациентов были выявлены «короткие» (ме-

Таблица 1
Субтеломерные геномные реорганизации в исследованной группе

№ образца	Статус индивида	Хромосомная перестройка
114Z	Пробанд с УО	del4q; del15p
140P	Пробанд с УО	duplX-Yq
202B	Пробанд с УО	del5p
225B	Здоровый сибс	del21q
248B	Здоровый сибс	del7q
259A	Пробанд с УО	del16q; dup16p

Таблица 2

Геномные реорганизации, выявленные у пациентов с УО в результате CGH-анализа

№ и тип перестройки	Хромосомный участок	Размер, т.п.н	Фенотипический эффект	Патогенез, гены
053A Dup	Xp22.31 (6,561–7,992) triplication	431	Не выяснен	Новый синдром УО, возможно вовлечены гены <i>HDHD1</i> (участвует в нуклеотидном обмене), <i>STS</i> (стероидная сульфатаза – обмен стероидных гормонов, влияет на процессы запоминания и обучения), <i>PNPLA4</i> (регулятор обмена липидов)
063A Dup	5p13.3 (31,146–32,185)	1039	Непатогенный	Новый полиморфизм
071A Del	2q37.3 (242,579–242,596)	17	Непатогенный	Известный ранее полиморфизм
040B Dup Dup	11q22.3 (103,555–104,643) 11q22.3 103.555.974– 104.643.501	1088 1087,5	Не выяснен Непатогенный	Новый полиморфизм Известный ранее полиморфизм
050B Dup	8p23.1–p23.2 (5,878–6,572)	694	Уточняется	Новый полиморфизм, возможно патогенный
057B Del	10q26.3–qter (132,997– 135,254)	2257	Патогенный	Перекрытие с патогенными CNV (44 гена)
Dup	2q35–qter (218,312–242,690)	24378	Патогенный	Перекрытие с патогенными CNV (325 генов)
083B Del	2q37.3 (242,579–242,596)	17	Непатогенный	Перекрывается с патогенными CNV
088B Del	2q37.3 (242,579–242,596)	17	Непатогенный	Перекрывается с патогенными CNV
091B Dup	Xp22.12–p22.11 (32,146– 32,185)	39	Не выяснен	Новый полиморфизм
Dup	5p13.3 (21,797–21,911)	114	Непатогенный	Новый полиморфизм
097B Del	6pter–p25.3 (0,204–0,238)	34	Непатогенный	Новый полиморфизм
Del	2q37.3 (242,579–242,596)	17	Непатогенный	Перекрывается с патогенными CNV
112B Del	Xq28 TO (152,975–153,062)	87	Возможно патогенный	Внутри перестройки ген <i>MECP2</i> (транскрипционный фактор – синдром Ретта)
119B Del	2q32.3–q33.1 (196,509–201,522)	5013	Возможно патогенный	Перекрытие с патогенными CNV (<i>SATB2</i> –регулятор транскрипции)

№ и тип перестройки	Хромосомный участок	Размер, т.п.н	Фенотипический эффект	Патогенез, гены
124B Del	1p36.32–pter (0,749–3,552)	2803	Патогенный	Перекрытие с патогенными CNV (74 гена)
143B Del	19q12 (34,283–34,790)	507	Не выяснен	Новый полиморфизм, частично перекрывается с патогенными CNV
160B Del	1p36.13 (16,814–16,921)	107	Непатогенный	Новый полиморфизм
Dup 154P	Xp21.1 (32,948–33,139)	191	Не выяснен	Новый полиморфизм
Del	2q37.3 (242,579–242,596)	17	Непатогенный	Перекрытие с патогенными CNV
031S Del	5q15–q22.1 (92,766–110,875)	18109	Возможно патогенный	Невозможно определить из-за большого размера перестройки
044S Del	8pter–p23.1 (0,181–6,901)	6720	Патогенный	Перекрытие с патогенными CNV (26 генов)
Dup	8p23.1–p21.2 (12,267–26,684)	14417	Патогенный	Невозможно определить из-за большого размера перестройки
114Z Del	16p12.2 (21,382–21,859)	477	Не выяснен	Известный патогенный CNV
136Z Del	2q37.1–qter (232,902–242,690)	9788	Патогенный	Перекрытие с патогенными CNV (103 гена)
Dup	3q27.3–qter (187,765–199,288)	11523	Патогенный	Перекрытие с патогенными CNV (90 генов)
003B* Dup	12q24.33 (130868308–131117235)	249	Возможно патогенный	Новый полиморфизм, внутри перестройки ген <i>RIMBP2</i> белка-партнера <i>RIMI</i> (нейромедиатор)
022B* Dup	7p21.1 (16455637–16819776)	364	Возможно патогенный	Новый полиморфизм, внутри перестройки гены <i>FPA1</i> и <i>ANKMY2</i> . Возможно вовлечен в транспорт и сигналинг белков

Примечание. Del – делеция; Dup – дупликация. * Образцы проанализированы с использованием 105К-микрочипов, остальные – с использованием 44К-микрочипов.

нее 20 CGG-повторов) или «длинные» (более 39 CGG-повторов) аллельные варианты. В настоящем исследовании у трех пробандов с УО из неродственных семей в генотипах присутствовали удлиненные аллельные варианты гена *FMRI* (077S♀ – 20/40 CGG-повторов, 0791B♀ – 23/41 CGG-повтор, 170B♀ – 29/40 CGG-повторов). В одной

семье у двух пациентов с УО были идентифицированы короткие аллельные варианты гена *FMRI* (012B♂ – 14 CGG-повторов, 012B♀ – 14/30 CGG-повторов). По некоторым литературным данным [19–22] упомянутые аллели могут быть ассоциированы с различными фенотипическими нарушениями, такими как преждевременное

истощение яичников (ПИЯ), болезнь Паркинсона, различные атаксии.

У 66 пациентов мужского пола с УО провели анализ экспансии CGG-повторов гена *FMR2*. Примененная в исследовании методика не позволяет осуществлять анализ у индивидов женского пола, а также нет возможности точного определения количества CGG-повторов в исследуемом образце. Во всех образцах выявили аллельный вариант гена *FMR2*, содержащий неэкспансированное количество CGG-повторов (норма). Кроме того, у всех пациентов мужского пола провели анализ метилирования трех «ломких» локусов X-хромосомы — *FRAXA (FMR1)*, *FRAXE (FMR2)*, *FRAXF*.

Наличие метилирования перечисленных хромосомных участков у мужчин ассоциировано с синдромом ломкой X-хромосомы. Ни у одного из проанализированных пациентов не выявили метилирование исследованных локусов. Результаты проведенного анализа генов *FMR1* и *FMR2*, а также локусов X-хромосомы позволили исключить у всех пациентов синдром ломкой X-хромосомы, что было одним из обязательных условий включения пациентов в дальнейшее исследование.

Следующий этап работы — проведение молекулярно-цитогенетического скрининга микрохромосомных перестроек с использованием высокоразрешающего CGH-анализа. В настоящее время обследованы пациенты из 48 семей, проживающих в Украине. У 26 пробандов перестроек генома не выявили. Остальные результаты CGH-анализа представлены в табл. 2.

В 9 семьях удалось выявить патогенные перестройки, захватывающие известные гены, которые связаны с патогенезом УО.

Размер части выявленных перестроек настолько велик (охватывает от нескольких десятков до нескольких сотен генов), что в настоящее время не представляется возможным выделить гены, перестройки в которых могут быть ассоциированы с развитием УО.

Следует отметить, что по результатам анализа базы данных DECIPHER некото-

рые из выявленных перестроек не являются патогенными, а представляют собой CNV-полиморфизмы, считающиеся одним из вариантов нормы. Эти перестройки не захватывают функционально значимых участков генома. В ближайшем будущем планируется завершение CGH-исследования.

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

Авторы благодарны Dr. C. Graziano, Dr. P. Magini (University of Bologna), а также Dr. P. Patsalis, Dr. J. Hettinger (The Cyprus Institute of Neurology and Genetics) за проведение CGH-анализа пациентов с УО из Украины. Настоящее исследование финансируется Европейским союзом в рамках 7-й рамочной программы (соглашение № 223692).

N.V. Hryshchenko, G.M. Bychkova, G.B. Livshits, S.A. Kravchenko, V.M. Pampukha, O.O. Soloviov, A.M. Kucherenko, P.F. Tatarsky, N.O. Afanasieva, I.V. Dubrovska, E.J. Patskun, N.O. Zymak-Zakutnia, T.V. Nikitchina, S.Yu. Lohush, L.A. Livshits

CLINICAL GENEALOGICAL AND
MOLECULAR GENETIC
STUDY OF PATIENTS
WITH MENTAL RETARDATION

The results of clinical, genealogical, cytogenetic and molecular genetic studies of 113 patients from 96

families with different forms of mental retardation from Ukraine are presented. This study was held as part of the CHERISH project of the 7-th Framework Program. The aim of the project is to improve diagnostics of mental retardation in children in Eastern Europe and Central Asia through detailed analysis of known chromosomal and gene's aberrations and to find the new gene-candidates that cause mental retardation. All patients have normal chromosome number (46XY or 46XX). The cases with fragile-X syndrome were eliminated using molecular genetic methods. Genome rearrangements were found among 28 patients using cytogenetic analysis, multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA analysis) of subtelomeric regions and array-based comparative genomic hybridisation (array CGH screening). In 10 cases known pathogenic CNV's were identified, 11 cases are unknown aberrations; their pathogenicity is being determined. The rest cases are known nonpathogenic gene rearrangements. Obtained results show the strong genetic heterogeneity of hereditary forms of mental retardation. The further studies will allow to identify genes candidates and certain mutations in these genes that may be associated with this pathology.

*Н.В. Грищенко, Г.М. Бичкова, Г.Б. Лівшиць,
С.А. Кравченко, В.М. Пампуха, О.О. Соловійов,
А.М. Кучеренко, П.Ф. Татарський, Н.О. Афанасьєва,
Є.В. Дубровська, Є.І. Пацкун, Н.О. Зимак-Закутня,
Т.В. Никитчина, С.Ю. Логуш, Л.А. Лівшиць*

**КЛІНІКО-ГЕНЕАЛОГІЧНЕ
ТА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНЕ
ДОСЛІДЖЕННЯ ПАЦІЄНТІВ
З РОЗУМОВОЮ ВІДСТАЛІСТЮ**

Представлено результати клініко-генеалогічного, цитогенетичного та молекулярно-генетичного дослідження 113 пацієнтів із різними формами розумової відсталості з 96 родин із України, яке проводилося в рамках міжнародного проекту CHERISH 7-ї рамкової програми. Метою наукового проекту є покращення діагностики розумової відсталості у дітей в країнах Центральної та Східної Європи за допомогою детального аналізу відомих хромосомних та генних перебудов, а також пошук нових генів-кандидатів, які призводять до розвитку розумової відсталості. В усіх пацієнтів було виявлено нормальний хромосомний набір (46XY або 46XX) та молекулярно-генетичними методами виключено синдром ламкої X-хромосоми. За результатами цитогенетичного дослідження, а також за допомогою кількісної мультиплексної лігазної пробозалежної ампліфікації (MLPA-аналіз) субтеломерних ділянок та серійної порівняльної геномної гібридизації (CGH-скринінг) виявлено різні геномні реорганізації у 28 пацієнтів. Серед

них 10 перебудов є відомими патогенними варіаціями числа копій генів (Copy Number Variants – CNVs), 11 – вперше виявлені варіанти, ступінь патогенності яких встановлюється на даний час, решта – відомі непатогенні геномні перебудови. Отримані результати свідчать про високу генетичну гетерогенність спадкових форм розумової відсталості. Подальші дослідження дозволять точніше виділити гени-кандидати та конкретні мутації в них, які асоційовані з цією патологією.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Kozma C., Stock J.* What is mental retardation // Children with Mental Retardation : A Parent's Guide. – Maryland : Woodbine House, 1992. – 49 p.
2. *Ковалев В.В.* Психиатрия детского возраста. – М.: Медицина, 1989. – 607 с.
3. *Raymond F.L., Tarpey P.* The genetics of mental retardation // Hum. Mol. Genet. – 2008. – **15**, № 2. – P. 110–116.
4. *Chelly J., Khelifaoui M., Francis F. et al.* Genetics and pathophysiology of mental retardation // Eur. J. Hum. Genet. – 2006. – № 14. – P. 701–713.
5. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>
6. *Feuk L., Carson A.R., Scherer S.W.* Structural variation in the human genome // Nat. Rev. Genet. – 2007. – № 7. – P. 85–97.
7. *Pinkel D., Seagraves R., Sudar D. et al.* High resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarrays // Nat. Genet. – 1998. – **20**, № 2. – P. 207–211.
8. *Koolen D.A., Pfundt R., de Leeuw N. et al.* Genomic microarrays in mental retardation: a practical workflow for diagnostic applications // Hum. Mutat. – 2009. – № 30. – P. 283–292.
9. *Маринчева Г.С., Гаврилов В.И.* Умственная отсталость при наследственных болезнях. – М.: Медицина, 2002. – 412 с.
10. *Van Karnebeek C.D., Jansweijer M.C., Leenders A.G. et al.* Diagnostic investigations in individuals with mental retardation: a systematic literature review of their usefulness // Eur. J. Hum. Genet. – 2005. – № 13. – P. 6–25.
11. *Kehrer-Sawatzki H., Cooper D.N.* Preface // Cytogenet Genome Res. – 2008. – **123**. – P. 5–6.
12. *Beckmann J.S., Sharp A.J., Antonarakis S.E.* CNVs and genetic medicine (excitement and consequences of a rediscovery) // Cytogenet. Gene Res. – 2008. – **123**. – P. 7–16.
13. *Дружинин В.* Психология общих способностей. – СПб.: Психология, 1999. – С. 117–131.
14. *Маниатис Т., Фрич Е.Е., Сэмбрук Ж.* Молекулярное клонирование / Пер. с англ. – М.:

- Мир, 1985. – 420 с.
15. Грищенко Н.В., Малярчук С.Г., Экишян А.Ю., Бычкова А.М., Лівшиц Л.А. Анализ метилирования промоторной области гена FMR1 у больных с синдромом Мартина-Белла из Украины // Цитология и генетика. – 2002. – 36, № 4. – С. 53–56.
 16. Бычкова Г.М., Лівшиц Г.Б., Лівшиц Л.А., Скибан Г.В., Бариляк І.Р., Сопко Н.І., Хажиленко К.Г., Мозгова О.М. Роль мутаций гена інгібіну, генів родини глутатіон-S-трансферази та гена FMR1 у розвитку деяких форм репродуктивних порушень у жінок // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології : 36. наук. пр. Том 1. – Київ, 2007. – С. 410–414.
 17. Santos C.B., Costa Lima M.A., Pimentel M.M.G. A New PCR assay useful for screening of FRAXE/FMR2 mental impairment among males // Human Mutat. – 2001. – 18. – P. 157–162.
 18. Strelnikov V., Nemtsova M., Chesnokova G. et al. A simple multiplex FRAXA, FRAXE and FRAXF PCR assay convenient for wide screening programs // Human Mutat. – 1999. – 13. – P. 166–169.
 19. Лівшиц Г.Б., Кравченко С.А., Грищенко Н.В., Судома І.А. Використання методів ДНК-аналіза для діагностики спадкових форм виснаження яєчників // Цитология и генетика. – 2005. – 39, № 2. – С. 60–64.
 20. Лівшиц Г.Б., Кравченко С.А., Татарський П.Ф., Судома І.О., Лівшиц Л.А. Молекулярно-генетичні дослідження порушень природної та стимульованої овуляції // Цитология и генетика. – 2008. – 42, № 2. – С. 63–69.
 21. Patsalis P.C., Sismani C., Hettinger J.A. et al. Frequencies of «grey-zone» and premutation-size FMR1 CGG-repeat alleles in patients with developmental disability in Cyprus and Canada // Amer. J. Med. Genet. – 1999. – 84, № 3. – P. 195–201.
 22. Costa A., Gao L., Carrillo F., Cáceres-Redondo M.T. et al. Intermediate alleles at the FRAXA and FRAXE loci in Parkinson's disease // Parkinsonism Relat Disord. – 2011. – 17, № 4. – P. 281–284.

Поступила 19.07.10