

О. П. Обухович

ОСОБЕННОСТИ МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ СИНДРОМА РЕТТА

Научный руководитель канд. биол. наук, доц. Е. В. Чаплинская

Кафедра биологии,

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

***Резюме.** В работе обозначены основные направления современной молекулярно-цитогенетической диагностики синдрома Ретта (RTT): описана роль мутаций гена MeCP2 в цитогенетической верификации RTT, охарактеризованы методы поиска поздней репликации X хромосомы и идентификации ее инактивации в диагностике синдрома.*

***Ключевые слова:** синдром Ретта, диагностика, молекулярно-цитогенетические методы.*

***Resume.** The detail analysis of modern methods of molecular-cytogenetic diagnostic of the Rett's syndrome is presented in the article. The separate aspects of diagnostic are described more: role of mutations in a gene MeCP2, X inactivation and type of X replication.*

***Keywords:** Rett's syndrome, diagnostic, molecular-cytogenetic methods.*

Актуальность. Синдром Ретта включает в себя дегенеративные изменения со стороны различных систем органов и в этой связи характеризуется сложностью

лечения. Среди всех умственно отсталых девочек 2,48% составляют пациенты с РТТ [1]. Возраст впервые отмеченных отклонений от нормального развития ребенка составляет от 4 месяцев до 2,5 лет. В настоящее время отсутствуют четкие критерии для пренатальной диагностики данного синдрома. Кроме того, в Республике Беларусь постановка диагноза - синдром Ретта - производится только на основании клинической картины заболевания, поэтому крайне необходимым является создание и применение оптимального метода его ранней постнатальной диагностики.

Цель: изучение основ дифференциальной молекулярно-цитогенетической диагностики РТТ.

Задачи:

1. Обобщить и систематизировать современные методы диагностики РТТ.
2. Описать роль мутационной изменчивости гена MeCP2 как одного из критериев для цитогенетической диагностики РТТ.
3. Дать количественную оценку изменениям аминокислотной последовательности белка, кодируемого геном MeCP2.
4. Определить роль явлений X-инактивации и ее поздней репликации в цитогенетической диагностике синдрома Ретта.

Материал и методы. Для оценки мутационной изменчивости гена MeCP2, а также количественной оценки изменений аминокислотной последовательности белка, кодируемого геном MeCP2 была использована международная база RettbaseIRSA [2]. Для определения роли явлений X-инактивации и ее поздней репликации X хромосомы использовались материалы международных исследований, обобщенные в исследовательском разделе Международной Ассоциации синдрома Ретта [3].

Результаты и их обсуждение. В настоящее время в клинической практике используют три основных направления диагностики РТТ:

- Установление спектра мутаций гена MeCP2, его влияние на нарушение функций одноименного белка.
- Анализ особенностей X-инактивации у пациентов с РТТ и их родителей.
- Исследования характера репликации хромосомы X [4].

Мутации гена MeCP2 находят у большинства пациентов с синдромом Ретта (35-80%). В результате исследований было выявлено, что доля молчащих мутаций среди других видов мутаций гена, составляет 6,93%. Поэтому, многие изменения гена MeCP2 не могут рассматриваться как диагностические для РТТ.

На сегодняшний день молекулярно-цитогенетическая диагностика синдрома Ретта, учитывающая мутации гена MeCP2, проводится с помощью ПЦР-рестрикционного анализа. Поскольку рестриктазы обладают строго специфичным сайтом узнавания, для использования данного метода необходим подробный анализ мутационной изменчивости гена MeCP2 при РТТ. Несмотря на наличие публикаций, характеризующих мутации гена, на современном этапе известны лишь восемь рекуррентных мутаций. Кроме того, не известна причина развития синдрома

у пациентов, не имеющих мутацию в гене. Перечисленные выше обстоятельства усложняют использование данного метода в диагностике РТТ.

Исследование X-инактивации проводится с помощью анализа статуса метилирования фланкирующих участков экспансии (ЦАГ), повторов гена HUMARA у пациентов с синдромом Ретта и их родителей [5]. При этом характерные особенности инактивации хромосомы X наблюдаются у 93% пациентов и у 81% матерей детей с РТТ. Следует отметить, что сдвиг инактивации, как правило, происходит в сторону отцовской хромосомы X (у 65%-73% случаев). Общая эффективность исследования данного феномена для верификации синдрома Ретта составляет 89,6%. Поэтому данный метод молекулярно-цитогенетической диагностики данного синдрома видится весьма перспективным. Необходимо отметить, что исследование преимущественно инактивированной хромосомы X может быть использовано для дальнейшего прогнозирования случаев РТТ в семье.

Однако описанный метод определения инактивации хромосомы X сопряжен со значительными финансовыми и временными затратами и в настоящее время в Республике Беларусь не проводится. Поэтому усовершенствование данной методики и разработка более оптимального метода является весьма актуальной задачей для практической медицины.

Одним из существенных факторов, определяющих генез РТТ, является особый тип репликации хромосомы X в интерфазу мейоза I [6]. У пациентов с синдромом Ретта выявлен аномальный тип поздно реплицирующейся хромосомы X, который не встречается в контрольной группе. Данное обстоятельство может свидетельствовать о нарушении процесса репликации данной хромосомы и рассматриваться как возможный механизм развития заболевания.

Клиническая диагностика РТТ на основании типа репликации хромосомы X может проводиться с помощью цитогенетических и/или молекулярно-цитогенетических исследований с учетом характерной картины поздней репликации. Помимо этого, следует учитывать тканевой мозаицизм, присущий данному синдрому. Соответственно, для усовершенствования методики, по всей видимости, следует применять молекулярно-цитогенетический анализ с использованием ДНК-проб на хромосому X, что позволит определить наличие тканевого мозаицизма, а также характер репликации участка X хромосомы Xq28 (локализация гена MeCP2) у пациентов с синдромом Ретта.

Выводы:

1 Современная молекулярно-цитогенетическая диагностика РТТ включает в себя определение спектра мутаций гена MeCP2 с помощью ПЦР-рестрикционного анализа.

2 Оценка характера инактивации X-хромосомы у пробанда и его родственников, а также определение типа репликации хромосомы X являются на сегодняшний день наиболее оптимальными методами для верификации РТТ.

3 Несмотря на наличие существующих вариантов методов, диагностика РТТ

остается достаточно дорогостоящей, технически сложной и крайне длительной по срокам выполнения, что и определяет необходимость дополнительных исследовательских работ в этом направлении.

O. P. Obuhovich

FEATURES OF MOLECULAR-CYTOGENETIC DIAGNOSTICS OF RETT'S SYNDROME

Tutor PhD, assistant professor H. V. Chaplinskaya

Department of Biology,

Belarusian State Medical University, Minsk

Литература

1. Всеобъемлющие согласованные усилия по лечению всего спектра нарушений, связанных с аутизмом/ доклад Секретариата Исполнительного комитета Всемирной организации здравоохранения.// 133-ая сессия.—08.04.2013.
2. RettBase [Электронный ресурс]/ МЕСР2 Mutation Data Form.-MeCP2 Mutation Data-base.- Режим доступа: <https://www.rettbase>.(дата обращения: 25.09.14).
3. Официальный сайт Международной Ассоциации синдрома Ретта [Электронный ре-сурс]/ International Rett's syndrome Association.- Research.- 2014 Symposium.- Режим доступа: <http://www.rettsyndrome.org>. (дата обращения: 25.09.14).
4. Комплексный клинико-генетический подход к диагностике синдрома Ретта у детей/ Юров Ю., Ворсанова С. Г., Воинова-Улас В. Ю. [и др.]// Вопросы современной педиатрии.— 2007.—№4.— С. 45-55.
5. Puck J.M., Willard H.F. X inactivation in females with X-linked diseases./ Puck J.M., Willard H.F. // N.Engl.J.Med. -1998.-№338.— P. 325-327
6. Ворсанова С.Г., Соловьев И.В., Юров И.Ю., Демидова И.А., Берешева А.К., Колотий А.Д., Монахов В.В., Кравец В.С., Юров Ю.Б. Цитогенетическая и молекулярная диагностика различных форм умственной отсталости у детей.//Южно-Российский Медицинский Журнал.— 2004.—№2.—С.61-66.