

УДК: 616-053.1-056.7:575.1/2

ИССЛЕДОВАНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ НА РАННИХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА

Ю.Б. Гречанина
Е.В. Бугаева
Т.Д. Алиева

*Харьковский специализированный
медико-генетический центр,
кафедра медицинской генетики ХНМУ,
Харьков, Украина*

e-mail: mgc@ukr.net

В статье рассматривается задача исследования клинического эффекта эпигенетической изменчивости на ранних этапах онтогенеза и ее вклад в развитие антенатальной гибели плода. Проведение анализа репродуктивных потерь при сочетании у родителей хромосомного полиморфизма и полиморфизмов генов фолатного цикла позволит разработать индивидуальные меры профилактики таких нарушений, снизить частоту акушерских и генетических осложнений.

Ключевые слова: эпигенетическая изменчивость, онтогенез, антенатальная гибель плода, профилактика.

Введение. Известно, что удельный вес врожденных и наследственных заболеваний не только как причин репродуктивных потерь, но и вообще в патологии человека, чрезвычайно велик. В настоящее время перспективным направлением клинической генетики является разработка индивидуальной первичной (преконцепционной) и вторичной (пренатальной) профилактики врожденной и наследственной патологии на разных этапах раннего онтогенеза: прегаметическом, презиготическом, эмбриональном и фетальном [1, 3, 7].

Доказано, что для нормального индивидуального развития и реализации генетической программы онтогенеза существенное значение имеет эпигенетическая регуляция активности генов, обуславливающих установление и поддержку их дифференциальной экспрессии [2, 5].

Проблема вклада аномальных эпигенетических модификаций генома в нарушение эмбрионального периода онтогенеза, который у человека характеризуется высокой частотой репродуктивных потерь (примерно 60% зигот элиминируется на пре- и ранних постимплантационных этапах развития, а 15-20% беременностей спонтанно прерываются течение 1-го триместра), в последние годы интенсивно изучается ведущими генетиками всего мира [4, 9, 11].

Приоритет в исследовании эпигенетических болезней в Украине принадлежит Харьковской школе клинической генетики, которую возглавляет член-корреспондент АМН Украины, профессор Е.Я. Гречанина. Предыдущие исследования сотрудников Украинского института клинической генетики ХНМУ позволили установить взаимодействие аллельных генов, находящихся в гетерозиготном состоянии, что приводит к унаследованному изменению экспрессии одного из аллелей (парамутации), на примере некоторых метаболических нарушений; связь изменения гетерохроматиновых регионов хромосом и нарушений фолатного цикла с многими фенотипическими проявлениями со сложным механизмом их формирования [6-8, 10]. Это позволило определить спектр эпигенетических болезней в регионе исследования.

Цель работы: определить клинический эффект эпигенетической изменчивости на ранних этапах онтогенеза и ее вклад в развитие антенатальной гибели плода.

Материалы и методы исследования: среди семей, обратившихся в ХСМГЦ в связи с наличием репродуктивных потерь, были отобраны пары с антенатальной гибелью плода в анамнезе. Супругам проводилось соматогенетическое исследование с синдромологическим анализом, анализ родословной; цитогенетическое исследование (G,C-окраска); высокоэффективная жидкостная хроматография аминокислот и гомоцистеина крови; молекулярное исследование полиморфизмов в генах



системы фолатного цикла, факторов свертывания крови, определение урогенитальных инфекций и TORCH-комплекса (методом полимеразной цепной реакции).

Результаты и их обсуждение. Нами проанализированы 2 клинических наблюдения.

Наблюдение 1. Пара П. (супруга 25 лет, супруг 27 лет) была направлена в ХСМГЦ для уточнения диагноза и тактики ведения в связи с отягощенным акушерским анамнезом: I беременность закончилась самопроизвольным абортom (с/а) на малом сроке, II – замерла в сроке 8 недель. Цитогенетическое исследование эмбрионов не проводилось.

Из анамнеза жизни известно, что женщина в детстве страдала тромбоцитопенией неясного генеза, менструации с 13 лет регулярные до 23 лет; в 23 года – произошло учащение цикла (каждые 15 дней длительностью 5 дней), была диагностирована гипофункция яичников, проведено лечение. На момент поступления в ХСМГЦ жалобы отсутствуют, менструальный цикл регулярный (22 дня).

У супруга на момент осмотра жалоб нет, однако из анамнеза жизни известно, что у его первой жены была одна беременность, закончившаяся также с/а на малом сроке.

В фенотипе обоих супругов обращает на себя внимание «мраморность» кожных покровов, признаки мезодермальной дисплазии. Анализ родословной выявил отягощенность множественной сердечно-сосудистой, психо-неврологической и онкопатологией.

На основании данных анамнеза, особенностей фенотипа и анализа родословной у супругов было заподозрено нарушение фолатного цикла. Дифференциальный диагноз проводился с хромосомной патологией.

Результаты дополнительных методов исследования:

	Супруга	Супруг
Кариотип	46, XX, 1qh+, G,C-окраска, 1% хромосомной нестабильности	46, XY, t (6;15)(q27;q14), G,C-окраска, 1% хромосомной нестабильности
ВЭЖХ аминокислот, гомоцистеин крови	в пределах нормы	в пределах нормы
TORCH, микоплазма, хламидия, уреоплазма	отрицательный результат	отрицательный результат
Гены фолатного цикла	полиморфизм 66 A→G (I22M) в гене MTRR в гомозиготном состоянии	полиморфизмы не обнаружены
Факторы свертывания крови	полиморфизмы не обнаружены	полиморфизм R353Q в гене F VII в гетерозиготном состоянии

Таким образом, в данном случае можно предположить, что сочетание хромосомного полиморфизма с дефицитом ферментов фолатного цикла (метионинсинтазы-редуктазы) у жены и сочетание реципроктной транслокации t (6;15)(q27;q14) с дефицитом факторов свертывания крови (F VII) у мужа привело к нарушению репродуктивной функции семьи и антенатальной гибели эмбрионов.

Наблюдение 2. Семья Я. состоит на учете в Харьковском специализированном медико-генетическом центре с 2000г. Обратилась в сроке беременности 4-5 недель в связи с отягощенным анамнезом (самопроизвольный аборт в сроке 6-7 недель). При обращении женщина предъявляла жалобы на периодические боли внизу живота, тошноту. В сроке беременности 9 недель находилась на стационарном лече-

нии в связи с угрозой прерывания беременности. При обследовании у беременной выявлено носительство токсоплазменной инфекции. Проведен курс сохраняющей терапии, а в сроке 16 недель при повторном стационарном лечении проведена санация очагов инфекции. Беременность протекала с признаками материнско-плодовой инфекции, угрозы прерывания беременности, фето-плацентарной недостаточности. Беременная была отнесена к группе высокого акушерского риска по геморрагическим осложнениям, так как при осмотре выявлены фенотипические признаки мезодермальной и соединительно-тканной дисплазии. В сроке гестации 39 недель родился мальчик (путем операции кесарево сечение) с весом 2600,0, выписан домой на 10-е сутки. В возрасте 3-х недель в связи с дефицитом массы тела ребенок госпитализирован в областную детскую больницу. При осмотре: в фенотипе ребенка обращали на себя внимание: долихоцефалическая форма головы, длинный фильтр, широкая спинка носа, телеангиэктазии в области щек, голубые склеры, низко расположенные ушные раковины, короткая грудина, широкое стояние сосков, длинные пальцы кистей, клинодактилия V пальцев стоп, низко расположенное пупочное кольцо, равномерно сниженная толщина подкожно жирового слоя. Ребенок получал докорм адаптированными молочными смесями. В дальнейшем состояние ребенка ухудшилось за счет неврологической симптоматики, сохранились вялость, гиподинамия, гипорефлексия, гипотрофия. Находился в реанимационном отделении, сохранялись метаболические нарушения, неврологическая симптоматика, рвота. Судорог не было. При обследовании у ребенка выявлено повышение 17 КС до 2,5 ($N=0,95-1,73$); гипоперфузия, отек, компрессия желудочков при проведении нейросонографии. При исследовании свободных аминокислот выявлено повышенное выделение α -аминоадипиновой кислоты с мочой, в крови – снижение глутамина, глицина, аланина, пролина, тирозина, валина, изолейцина, фенилаланина, лейцина, орнитина. В моче выявлен пик недифференцированного вещества. По результатам обследования заподозрена α -аминоадипиновая ацидурия у ребенка.

В связи с выявленной патологией у ребенка с целью прекоцепционной профилактики супруги обследованы в ХСМГЦ. При цитогенетическом исследовании супругов – методом культивирования периферических лимфоцитов – кариотип – 46,XX, G окраска, 2% хромосомной нестабильности, 46,XY, G окраска, 3% хромосомной нестабильности. Полученные результаты биохимического обследования подтвердили носительство супругами ацидурии.

В комплекс прекоцепционной подготовки включена индивидуально подобранная диетотерапия, после проведения которой наступила беременность (III), которая в раннем сроке сопровождалась выраженной слабостью, явлениями сильного токсикоза. В сроке 8-9 недель беременность замерла. При цитогенетическом исследовании методом культивирования клеток ворсин хориона – кариотип – 46,XX(80%)/92,XXXX(20%).

Оценивая данные биохимического исследования супругов и ребенка можно думать о наличии глутаровой ацидурии I типа. В плане прекоцепционной терапии проведена специфическая диетотерапия. На фоне проводимой терапии наступила беременность (IV), которая замерла в сроке 6-7 недель. Беременность также протекала с выраженными явлениями раннего токсикоза. При цитогенетическом исследовании ворсин хориона – кариотип – mos 45, X [5]/ 45,XX, -18[3] / 46,XX [12].

Учитывая данные анамнеза, дополнительных методов исследования, фенотипические признаки ребенка с α -аминоадипиновой ацидурией, можно думать о наличии у ребенка хромосомной болезни. Учитывая наличие двух последующих плодов с мозаичными вариантами хромосомной патологии, имеет место вредное влияние на ранней стадии деления зиготы (нельзя исключить воздействие ионизирующей радиации и инфекции).

Данный случай может свидетельствовать о нарушении компактизации/ декомпактизации хроматина вследствие влияния вредных внешних факторов (инфек-

ция, радиация). Доза радиации привела к нарушению функции генома и способствовала возникновению повторного случая мозаичной формы хромосомной патологии.

Выводы. С нашей точки зрения, перспективным направлением в изучении клинического эффекта эпигенетической изменчивости на ранних этапах онтогенеза является проведение корреляционного анализа репродуктивных потерь при сочетании у родителей нарушений компактизации/декомпактизации хроматина и дефицита ферментов фолатного цикла и/или факторов свертывания крови. Это позволит разработать индивидуальные меры профилактики таких нарушений и тем самым добиться снижения частоты репродуктивных потерь и акушерских осложнений.

Литература

1. Богатирьова, Р. В. Генетика репродуктивних втрат / Р. В. Богатирьова, О. Я. Гречанина. – К., 2003. – 206 с.
2. Гетерохроматиновые районы хромосом человека: клиничко-біологічні аспекти / С. Г. Ворсанова, И. Ю. Юров, И. В. Соловьев, Ю. Б. Юров. – М. : Медпрактика-М, 2008. – 300 с.
3. Гречанина, О. Я. Первинна профілактика генетичних дефектів / О. Я. Гречанина // Ультразвукова перинатальна діагностика. – 2001. – № 14. – С. 125–133.
4. Лебедев, И. Н. Эпигенетические модификации генома в эмбриональном периоде онтогенеза человека : автореф. дис...докт. биол. наук: спец. 03.00.15 / И. Н. Лебедев. М., 2008. – 40 с.
5. Назаренко, С. А. Нарушение эпигенетической регуляции активности генов и болезни человека / С. А. Назаренко // Вестник РАМН. – 2001. – № 10. – С. 43–48.
6. Наследственные нарушения обмена серосодержащих аминокислот / Е. Я. Гречанина, Р. Маталон, Ю. Б. Гречанина [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2009. – № 1. – С. 53–61.
7. Неиспользованные возможности пренатальной эхографии: дефекты закрытия нервной трубки – как маркер эпигенетических нарушений / Е. Я. Гречанина, Г. Р. Аюпян, Р. Маталон [и др.] // Ультразвукова перинатальна діагностика. – № 22. – 2006. – С. 26–52.
8. Genetic Polymorphisms of Methylenetetrahydrofolate Reductase, Methionine Synthase Reductase, and Reduced Folate Carrier-1 in a High Neural Tube Defect Risk Population / E. Y. Grechanina, R. K. Matalon, B.B. Holmse [et al.] // J. Inherit. Metab. Dis. – 2007. – Vol. 30 (1). – P. 30.
9. Scriver, C. R. After the genome – the phenome? / C. R. Scriver // J. Inherit. Metab. Dis. – 2004. – Vol. 27 (3). – P. 305–317.
10. Search for phenol- and genotypical conformities in folate cycle defects beyond the usual genetics / O. Ya. Grechanina, R. V. Bogatireva, Matalon R. [et al.] // Journal of Inherited Metabolic Disease. – Vol. 31. – 2008. – P. 11.
11. Ulrey, C. L. The impact of metabolism on DNA methylation / C. L. Ulrey, L. Liu, L. G. Andrews, T. O. Tollefsbol // Hum. Mol. Genet. – 2005. – Vol. 14. – P. 139–147.

THE STUDY OF CLINICAL EFFECT OF EPIGENETIC VARIABILITY IN EARLY STAGES OF ONTOGENESIS

J. B. Grechanina
H. V. Bugayova
T. D. Alieva

*Kharkov Special Medical
 Genetical Center,
 Kharkov National Medical
 University*

e-mail: mgc@ukr.net

In the article deals with the study of clinical effect of epigenetic variability in the early stages of ontogenesis and its contribution in the development of antenatal fetal death. Analysis of reproductive losses in conjunction with parental chromosomal polymorphism and polymorphisms of genes folate cycle will develop individual action to prevent such violations, reduce the frequency of obstetric and genetic complications.

Key words: epigenetic variability, ontogenesis, antenatal fetal death, prevention.