

Материал поступил в редакцию: 27-09-2014

Материал принят к печати: 11-10-2014

УДК 61:575

# An integrated clinical-laboratory and molecular-genetic approach in the diagnosis of genetic abnormalities among the population of Azerbaijan Republic

**Akbarova G.**

*Бакинский Государственный Университет, г.Баку, Азербайджан*

It is presented an overview of the results of own studies in 39 settlements of Mugan, Shirvan, Ganja and Lenkoran-Kazakh economic regions of Azerbaijan during the period since 2005 to 2013 in this article. It was diagnosed the types of congenital and hereditary abnormalities, installed options of inheritance and frequency of their distribution by means of biochemical, hematological and molecular-genetic methods. The additional analysis by Reverse Dot-Blot Hybridization StripAssay and Big Dye™ Terminator DNA methods were hold in ambiguous clinical and laboratory results. The obtained results will make the basis of nation-wide register of congenital and hereditary diseases and will help in the differential diagnosis and treatment.

**Keywords:** Reverse Dot-Blot Hybridization StripAssay, Big Dye™ Terminator DNA-sequencing, types of mutations, Azerbaijan Republic

**J Clin Med Kaz 2014; 3(33):8-12**

**Автор для корреспонденции:** Акперова Гюнай, Бакинский Государственный Университет, Азербайджан, г.Баку, ул.Ф.Байрамова, 5, кв.25 тел.: +99450-3597670, e-mail: gunay.akbarova@bsu.az

## ӘЗЕРБАЙЖАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ ТҮРҒЫНДАРЫНДА КЕЗДЕСЕТІН ГЕНЕТИКАЛЫҚ ПАТОЛОГИЯНЫ АНЫҚТАУДА КЕШЕНДІ КЛИНИКАЛЫҚ-ЗЕРТХАНАЛЫҚ ЖӘНЕ МОЛЕКУЛЯРЛЫҚ-ГЕНЕТИКАЛЫҚ ӘДІСТЕРІ ҚОЛДАНУ

**Акперова Г.**

*Баку мемлекеттік университеті, Баку қаласы, Әзербайжан*

Мақалада 2005-2013 жылдар аралығында Әзербайжан Республикасының Муган, Ширван, Ленкоран және Гянджа-Қазақ экономикалық аумақтарының 39 елді мекенінде жүргізілген өз зерттеуіміздің шолуы берілген. Биохимиялық, гематологиялық және молекулалық-генетикалық әдістердің көмегімен туа пайда болған және жүре келе дамыған патологиялардың типі, тұқым қуалау жолдары мен таралуы анықталды. Нақты емес клиникалық-зертханалық нәтижелерде қосымша Reverse Dot-Blot Hybridization StripAssay және ДНК секвенирлеу Big Dye™ Terminator әдістері қолданы. Алынған нәтижелер туа пайда болған және жүре келе дамыған патологиялардың жалпыреспубликалық регистрі болып табылады және ажыратпалы диагностика мен ем кезінде қолдануға мүмкіндік береді.

**Маңызды сөздер:** Reverse Dot-Blot Hybridization StripAssay, Big Dye™ Terminator, ДНК-ны секвенирлеу, мутация типтері, Әзербайжан

## ПРИМЕНЕНИЕ КОМПЛЕКСНОГО КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОГО И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОДХОДА В ДИАГНОСТИКЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПАТОЛОГИЙ СРЕДИ НАСЕЛЕНИЯ АЗЕРБАЙДЖАНСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

**Акперова Г.**

*Бакинский Государственный Университет, г.Баку, Азербайджан*

Статья представляет собой обзор результатов собственных исследований, проведенных в 39 населенных пунктах Муганской, Ширванской, Ленкоранской и Гянджа-Казакской экономических регионов Азербайджанской Республики в период с 2005 по 2013 гг. С помощью комплекса биохимических, гематологических и молекулярно-генетических методов диагностированы типы врожденных и наследственных патологий, установлены варианты наследования и частота их распространения. При неоднозначных клинико-лабораторных результатах проведены дополнительные анализы методами Reverse Dot-Blot Hybridization StripAssay и Big Dye™ Terminator секвенирования ДНК. Полученные результаты составят основу общереспубликанского регистра врожденных и наследственных патологий и помогут при дифференциальной диагностике и лечении.

**Ключевые слова:** Reverse Dot-Blot Hybridization StripAssay, Big Dye™ Terminator, секвенирование ДНК, типы мутаций, Азербайджан

Использование эпидемиологического подхода совместно с клинико-лабораторными и молекулярно-генетическими методами исследования в последние годы приобретает особую актуальность и определяется необходимостью разработки адекватных профилактических программ с учетом территориальных особенностей патологии.

Популяционно-статистический анализ общей и специфических частот врожденных пороков и наследственных заболеваний, проведенных в Ширванском округе, Саатлинском, Сальянском районах Аранского региона, Ахсуинском и Кобустанском районах Ширванского региона, Казахском, Акстафинском, Таузском районах Гянджа-Казахского региона и Джалилабадском районе Ленкоранского региона в 2005-2013 гг., основанный на исследовании списков ВТЭК ЦРБ, записей медицинских карт и дополнительной информации, полученной в ходе подворовых опросов, позволил установить 11 подобных заболеваний. Среди них лидирующими патологиями являются нарушения ЦНС и органов чувств, составляющие в около 62%, и наследственные заболевания крови, в совокупности, занимающие 17,5%-это характерные для Азербайджана талассемия, гемофилия, дефицит фермента глюкоза-6-фосфатдегидрогеназы и серповидно-клеточная анемия с частотой встречаемости 5,93%, 1,86%, 7,62% и 2,09%, соответственно.

Согласно спискам ВТЭК ЦРБ и данным Государственного Комитета по Статистике, наиболее распространенными в Азербайджане нозологическими формами среди нарушений ЦНС являются ДЦП и энцефалопатия, которые по своей природе могут быть как мультифакториальными, так и врожденными [1]. Ввиду того, что диагностика неврологических нарушений в раннем возрасте нередко затруднена вследствие нечеткой картины симптомов, совместное использование биохимических и молекулярных методов исследования необходимо для построения адекватной терапии церебральных нарушений и их профилактики. С этой целью нами определялись биохимические маркеры поражения нервной ткани у больных с ДЦП и энцефалопатией – свободный внутриклеточный магний и липидный спектр клеточных мембран, влияющие на мембран-рецепторные и нейротрансмиттерные связи и модифицирующие трансмембранный транспорт ионов и активность перекисного окисления липидов. Мембраны эритроцитов отражают нормальную и патологическую функциональность мембран других тканей и органов и часто используются для изучения процессов, происходящих в организме, а при ДЦП и энцефалопатии снижается деформируемость мембран и увеличивается концентрация конечных продуктов перекисного окисления липидов в плазме [2].

Среди всех типов нарушений ЦНС, зарегистрированных в ходе исследований, частота встречаемости ДЦП и энцефалопатии в обследуемых регионах республики составила 17,13% и 13,12%. Из 196 больных с ДЦП и энцефалопатией, выявленных ранее, среди 92 детей обоего пола в возрасте 1,5 месяца-7 лет проведены комплексные клинико-биохимические исследования. Отобрано 47 детей с разными формами ДЦП (от легкой до тяжелой) и 45 – с перинатальной энцефалопатией. В качестве контрольной группы аналогично больным детям

обследованы относительно здоровые дети (38 человек) аналогичного возраста обоего пола без неврологических нарушений.

Установлено, что у детей с ДЦП и энцефалопатией достоверно увеличивался уровень свободного холестерина и эфиров холестерина до  $3,66 \pm 0,44$ ,  $1,49 \pm 0,12$  г/л и  $4,47 \pm 0,75$ ,  $1,16 \pm 0,09$  г/л, соответственно (контроль -  $2,5 \pm 0,11$  и  $1,07 \pm 0,07$  г/л). Уровень общих липидов в мембранах эритроцитов у детей с данными патологиями повышался незначительно по сравнению с контрольными значениями ( $6,3 \pm 2,0$  мМ/л) –  $7,4 \pm 2,51$  мМ/л (при ДЦП) и  $7,92 \pm 2,71$  мМ/л (при энцефалопатии).

Содержание триглицеридов в мембранном слое у детей с ДЦП повышалось до  $1,6 \pm 0,24$  г/л и достоверно отличалось от контрольных значений ( $1,01 \pm 0,2$  г/л), а у детей с энцефалопатией – количество триглицеридов снижалось до  $0,78 \pm 0,12$  г/л. Известно, что увеличение неэстерифицированных жирных кислот дезорганизует липидный бислой и приводит к неконтролируемому потоку ионов [3]. У больных с ДЦП количество неэстерифицированных жирных кислот повышалось до  $2,02 \pm 1,09$  мМ/л, при энцефалопатии снижалась до  $0,61 \pm 0,11$  мМ/л (контроль -  $0,92 \pm 0,18$ ). Среди больных с более тяжелой формой заболевания выявлено понижение общих фосфолипидов до  $1,87 \pm 0,08$  г/л, что связано с нарушением черепно-мозговой иннервации (контроль -  $3,32 \pm 0,41$  г/л).

У детей с ДЦП уровень фосфатидилхолина и фосфолипидов составлял  $36,5 \pm 3,1$  и  $15,6 \pm 3,2\%$ , при энцефалопатии –  $38,3 \pm 2,5$  и  $15,2 \pm 3,4\%$ , соответственно. Такое повышение содержания фосфатидилхолина у больных детей по сравнению с контрольной группой ( $28,5 \pm 1,8\%$  и  $14,7 \pm 2,0\%$ ) является компенсаторным действием, ввиду того, что данная фракция является стабилизатором фосфолипидного слоя. Содержание остальных фракций фосфолипидов в мембранах эритроцитов снижалось по мере утяжеления состояния больного ребенка.

При сопутствующей патологии, в противоположность остальным фракциям фосфолипидов, сфингомиелин повышался параллельно тяжести заболевания и составлял в среднем до  $19,2 \pm 3,2\%$  (контроль -  $8,0 \pm 0,4\%$ ), что объясняется важной ролью сфингомиелина в патогенезе различных заболеваний ЦНС.

Содержание фосфатидной кислоты в эритроцитах при неврологических патологиях снижалось до  $2,93 \pm 1,17\%$  при ДЦП и  $2,0 \pm 1,08\%$  при энцефалопатии (контроль -  $3,13 \pm 1,4\%$ ). Параллельно снижалось и процентное содержание кардиолипина до  $2,8 \pm 0,91\%$  при ДЦП и  $3,32 \pm 0,6\%$  при энцефалопатии (контроль -  $4,9 \pm 1,44\%$ ).

В ранних исследованиях выявлена корреляционная связь между содержанием свободного магния и липидного состава мембран эритроцитов [3]. Установлено, что дети с ДЦП и энцефалопатией имели пониженный уровень свободного магния в эритроцитах по сравнению с контрольной группой –  $0,2 \pm 0,013$ ,  $0,21 \pm 0,018$  и  $0,27 \pm 0,02$  мМ, соответственно. У детей с энцефалопатией при снижении свободного магния до  $0,21 \pm 0,018$  мМ в эритроците увеличивается уровень фосфолипидов до  $2,82 \pm 0,43$  г/л, свободного холестерина – до  $4,47 \pm 0,75$  г/л, триглицеридов – до  $0,78 \pm 0,12$ , и неэстерифициро-

ванных жирных кислот – до  $0,61 \pm 0,11$ . При ДЦП никаких подобных корреляционных связей не выявлено, что, вероятно, свидетельствует о срыве адаптационных возможностей у подобных детей.

Таким образом, установленные достоверные изменения в липидном спектре клеточных мембран и фосфолипидного состава эритроцитов при ДЦП и энцефалопатии у детей непосредственно влияют на клиническую картину заболевания, степень тяжести и умственную картину развития детей, что должно учитываться при назначении длительной мембранстабилизирующей терапии.

Среди больных с неврологическими нарушениями путем цитогенетических и генологических методов, а также основываясь на списки ВТЭК ЦРБ, в поселках Ширванского областного округа, в Казахском и Таузском районах обнаружено девять больных с синдромом Клайнфельтера, трое из которых не имели психических отклонений, шестеро характеризовались умственной отсталостью, фациальными расщелинами и психическими расстройствами. Подобная фенотипическая вариабельность проявления заболевания часто бывает следствием мутаций и полиморфизма гена андрогенового рецептора, расположенного на X-хромосоме (Xq11.2-q12). Кроме того, согласно литературным данным, около 25% случаев синдрома Клайнфельтера остаются не распознанными, ввиду проявления фенотипических признаков после полового созревания и широкого спектра клинической картины [4].

С целью определения взаимосвязи между генетической модификацией данного гена и различием в клиническом проявлении синдрома Клайнфельтера нами проведен молекулярный анализ гена андрогенового рецептора путем Big Dye™ Terminator секвенирования ДНК.

У всех больных выявлены высокие уровни лютеинизирующего и фолликулстимулирующего гормона –  $16,8 \pm 4,2$  mIU/мл и  $22,7 \pm 6,1$  mIU/мл, соответственно, при норме – 1.8-5.2; 2.9-8.2, общего холестерина и триглицеридов –  $6,8 \pm 2,6$  мМ/л и  $3,3 \pm 1,0$  мМ/л, а также нарушение толерантности к глюкозе, при которой уровень глюкозы повышался до  $9,9 \pm 3,8$  мМ/л (норма <7,8 мМ/л), что свидетельствовало о нарушении липидного и углеводного обмена. Надо отметить, что предыдущие исследования также подтверждают ассоциацию синдрома Клайнфельтера с риском возникновения диабета и метаболических синдромов, а также с психическими нарушениями, социальной адаптацией и неспособностью или низкой способностью к обучению [4,5].

В результате молекулярного анализа установлено, что все девять пациентов с синдромом Клайнфельтера имели дополнительные повторы с САG-сайте первого экзона гена андрогенового рецептора. Так, установлено, что в норме САG участок повторялся в среднем 22 раза, у больных – их количество возрастало до 45 повторов. Больные с расщелиной неба и умственной отсталостью имели по 45 повторов, с психосоциальными расстройствами – по 43, без каких-либо ассоциаций – 38-40 повторов.

Полученные результаты объясняются тем, что рецепторы андрогена позволяют организму адекватно реагировать на мужские половые гормоны. При увеличении числа повторов САG-полиморфного участ-

ка экспрессия изменяется, и рецептор может потерять свойство связывания с гормоном. Известно, что длина САG-аллели обратно пропорциональна к фенотипическим признакам у мужчин [6, 7]. Так, например, у обследованных больных обнаружена прямая связь между ростом и САG-повторами: у больных синдромом с ростом 193-195 см количество САG-повторов достигало 45 (трое больных), 189-191 см – 43 (трое), 184-186 см – 40 (двое), 180 см – 38 (один человек). Таким образом, чем короче САG-аллель в гене андрогенового рецептора, тем выше его транскрипционная активность и тем меньше фенотипическое проявление синдрома Клайнфельтера.

Кроме того, наблюдалась четкая корреляция между количеством САG-повторов и уровнем интеллекта. У больных с повторами в количестве 45 наблюдалась умственная отсталость. У троих больных с 43-мя САG-повторами отмечены проблемы с вербальной коммуникацией, учебной, исполнением поставленных задач, задержка речи. Учитывая то, что ген андрогенового рецептора находится на X-хромосоме, отсутствие лайонизации ведет к дополнительной экспрессии генов данной хромосомы, связанных со структурными функциями мозга [8,9].

Таким образом, увеличение числа X-хромосом и длины САG-аллели прямо пропорционально психическому развитию, социальной приспособленности, профессиональной деятельности и обратно пропорционально развитию мужских половых признаков.

Комплексная программа исследований также предусматривала идентификацию клинико-биохимических и молекулярных особенностей наиболее характерных для популяции Азербайджана наследственных заболеваний крови – энзимопатии по глюкозо-6-фосфатдегидрогеназе (Г-6-ФД), талассемии и серповидно-клеточной анемии, а также анализ популяционно-генетических особенностей распространения установленных типов мутаций среди населения обследованных районов.

На первом этапе проведены гематологические анализы (определение содержания Hb, HCT, RBC, MCV, MCH, RTC), являющиеся критериально значимыми методами дифференциального анализа.

Нами обследовано 405 младенцев обоего пола с неонатальной желтухой, у которых определялся уровень сывороточного билирубина, ретикулоцитов, гемоглобина и эритроцитов, активность фермента Г-6-ФД, среди которых у 135 детей обнаружена энзимопатия. В числе общих причин патологической гипербилирубинемии исключались несовместимость по АВО-группе и резус-показателям, сепсис, гематомы и недоношенность, которые часто сопровождают неонатальную желтуху [10,11].

Механизм физиологической желтухи существует в той или иной степени у всех новорожденных, но усиливается при энзимопатии из-за повышенного гемолиза и дополнительной нагрузки билирубина. По этой причине определение уровня TSB, SCB и активности Г-6-ФД до выписки новорожденных может снизить тяжелые последствия гипербилирубинемии и предотвратить риск развития необратимых неврологических нарушений, вызванных ядерной желтухой.

Установлено, что количество гемизигот в Саатлинском, Сальянском районах Аранского региона и Джалилабадском районе Ленкоранского района максимальное и составляет 20,74% и 23,70% общего количества обнаруженных детей с энзимопатией, соответственно. Данное обстоятельство объясняется географической корреляцией встречаемости энзимопатии с историческим распределением тропической малярии в данных областях, и является доказательством защитной роли дефицита Г-6-ФД против малярийного плазмодия у гетерозиготных женщин и гемизиготных мужчин.

Среди младенцев женского пола на данные регионы приходится 5,93% и 7,41% гомозигот, 2,96% и 5,19% гетерозигот, соответственно.

У всех новорожденных с тяжелой гипербилирубинемией активность фермента к семи дням падала до  $0,52 \pm 0,29$  Ед/гНб (контроль -  $10,2 \pm 1,24$ ), общий сывороточный билирубин (TSB) составил  $20,61 \pm 4,12$  мг/дл (контроль -  $0,67 \pm 0,29$ ), конъюгированный (SCB) - резко снижался до  $0,050 \pm 0,037$  мг/дл (контроль -  $0,18 \pm 0,09$ ). Последнее могло быть последствием тяжелой формы дефицита Г-6-ФД, ведущему к ограничению поглощения билирубина печенью вследствие полиморфизма или мутации гена Г-6-ФД [12]. Для проверки данной гипотезы проведены дополнительные молекулярно-генетические исследования на наличие мутаций в гене Г-6-ФД.

Методом полного секвенирования ДНК установлены две подгруппы дефицита фермента – средиземноморского варианта с.563 С-Т и с.1311 С-Т. Мутация с.563 С-Т характеризуется субституцией серина на фенилаланин в 188 позиции в шестом экзоне, ведущей к резкому снижению активности фермента Г-6-ФД. Из 135 больных у 92 новорожденных установлен данный вариант с активностью фермента  $0,4 \pm 0,12$  Ед/гНб, что ниже показателя нормальных младенцев с желтушностью, но без дефицита ( $14,0 \pm 3,74$  Ед/гНб). В отличие от нормальных младенцев, у новорожденных с дефицитом фермента клиническая желтуха выявлялась намного раньше – уже на первый день, уровень билирубина оказался выше, TSB составил  $22,2 \pm 4,81$  мг/дл при SCB –  $0,031 \pm 0,019$  мг/дл, количество ретикулоцитов составило  $4,8 \pm 2,2\%$ . Наблюдения показали, что в отличие от нормальных детей, у младенцев с мутацией с.563 С>Т максимальное количество билирубина достигается в течение первых пяти дней жизни, у нормальных детей – в течение 16-ти дней.

Из 92 новорожденных с выявленной мутацией с.563 С>Т у 12-ти дополнительно выявлен полиморфизм в 11-м экзоне – с.1311 С>Т, что объясняется частым метилированием цитозина в 5'-метил-цитозин, который в свою очередь, спонтанно дезаминируется в тимидин. При с.1311 С>Т варианте аминокислотных изменений не происходит, поэтому данная сайлент-мутация часто сопровождает мутацию в шестом экзоне с.563 С>Т. У 44 человек с дефицитом Г-6-ФД вариант с.1311 С>Т выявлен без ассоциации с мутацией с.563 С>Т. По активности фермента данный вариант показал  $30\% - 2,1 \pm 1,2$  Ед/гНб, что объясняется близким расположением полиморфизма к аминоконцу фермента, что и вызывает легкий вариант энзимопатии.

Таким образом, у 92 человек, из которых у 62 наблюдалась тяжелая форма дефицита Г-6-ФД, мутация связана с кластеризацией вблизи сайта НАДФ, которая

может изменить кинетику гена, и лица с данным вариантом будут более восприимчивы к химическим соединениям, вызывающим гемолитические кризы.

Популяционно-генетическое исследование позволило выявить 105 случаев  $\beta$ -талассемии, среди которых обнаружено 55 больных мужского и 50 человек – женского пола. Гематологический анализ, совместно с определением уровня ферритина в сыворотке, сывороточного железа, HbF и HbA2 позволил выявить случаи  $\beta$ -талассемии, которые соответствовали всем клиническим проявлениям, среди которых большинство составили случаи промежуточной и малой  $\beta$ -талассемии.

Методом RDBN и путем Big Dye™ Terminator ДНК-секвенирования установлены генотипы  $\beta$ -талассемии, соответствующие мутациям: транзигия G>A с образованием 5'-акцепторного сайта  $\beta$ +IVS1.110(G>A), транзигия G>A с нарушением сплайсинга в 5'-акцепторном сайте –  $\beta$ 0IVS2.1(G>A), трансверсия G>C с редукцией сплайсинга в 5'-акцепторном сайте –  $\beta$ +IVS1.5(G>C), делеция (сдвиг рамки считывания) с нарушением транслации в 8м кодоне первого экзона –  $\beta$ 0codon 8(-AA), транзигия T>C с согласованным сплайсингом в 5'-акцепторном сайте –  $\beta$ +IVS1.6(T>C).

Максимальное количество больных талассемией – 71 человек, обнаружено в Аранской и Ленкоранской экономических регионах, что также, как и в случае с дефицитом фермента Г-6-ФД, объясняется историческим распространением малярии в этой области [13]. Хотя на сегодня в Азербайджане уничтожены 98% очагов малярии, историческое распространение плазмодия оставило свой след в генофонде азербайджанского населения, который закрепляется близкородственными браками, широко распространенными именно в южных регионах республики [13,14,15].

Всего установлено 32 гомозиготных больных, 40 гетерозиготных, 33 – компаундов. Общее количество мутированных  $\beta$ -глобиновых генов, обнаруженных в девяти районах Аранского, Ширванского, Гянджа-Казакского и Ленкоранского регионов, составляло 145, среди которых максимальное количество приходилось на мутацию  $\beta$ +IVS1.110(G>A) (40,69%), минимальное – на мутацию  $\beta$ +IVS1.6(T>C) (8,97%).

При проведении молекулярного анализа путем Reverse Dot-Blot Hybridization Strip Assay и Big Dye™ Terminator секвенирования ДНК обнаружено 37 больных (17 человек мужского, 16 – женского пола), среди которых 12 человек являлись гетерозиготными по серповидно-клеточной анемии (HbS/wt), 4 – гомозиготами (HbSS), у 9-х – анемия регистрировалась совместно с  $\beta$ -талассемией ( $\beta$ +/HbS), у 6-х – совместно с  $\beta$ 0-талассемией ( $\beta$ 0/HbS), у 5-х – с дефицитом Г-6-ФД, у 1-го – с дефицитом Г-6-ФД и  $\beta$ +талассемией.

В обследуемых регионах серповидно-клеточная анемия распространена со следующей частотой: HbS/wt – 32,43%, HbSS – 10,81%,  $\beta$ +/HbS – 24,32%,  $\beta$ 0/HbS – 16,22%, HbS+ Г-6-ФД – 13,51%, HbS+ Г-6-ФД +  $\beta$ -талассемия – 2,7%. В Аранской и Ленкоранской экономических регионах среди больных талассемией встречаемость серповидно-клеточной анемией составила 34,72%, среди которых 33% - это больные с генотипом  $\beta$ +/HbS, 14,81% -  $\beta$ 0/HbS, 7,14% - ассоциация HbS+ Г-6-ФД + талассемия и HbS+ Г-6-ФД. Установлено, что

анемия была ассоциирована с мутациями  $\beta$ -глобинового гена IVS1.110, IVS1.5 и IVS11.1.

Гомозиготный генотип обнаружен у 4 человек в Ленкоранском и Аранском регионах и характеризовался снижением общего гемоглобина, гематокритом в 27%, HbS - 83,9%, нормальным HbA2 и повышением HbF до 14%, а также определенными физическими проявлениями. Обнаружены 12 больных с гетерозиготным генотипом фенотипически являлись здоровыми, однако у 24% выявлялись боли в суставах и животе, повышенная утомляемость, HbS - 35,5%, HbF - 0,93%, HbA2 - 2,98%, HbA - 62%.

В наших исследованиях выявлено мягкое течение  $\beta$ -талассемии у троих больных с гомозиготными генотипами  $\beta 0IVS2.1(G>A)/\beta 0IVS2.1(G>A)$  и  $\beta 0codon 8(-AA)/\beta 0codon 8(-AA)$  и у мальчик 7 лет с низкими значениями гемоглобина (5,1 г/дл), HbA2-3,0% и HbF-16%. Однако при молекулярном анализе талассемия не выявилась. Данные случаи дали основание подозревать наличие полиморфизма XmnI в  $\gamma$ G-глобиновом гене и мутации в микросателлитах (AT)x(T)y.

Несмотря на мутации в  $\beta$ -глобиновом гене, у пациента проявляется мягкая клиника  $\beta$ -талассемии, что связано с относительно большим количеством  $\gamma$ -цепей после неонатального периода, число которых возрастает при наличии полиморфизма XmnI -158(C>T), взаимодействующего с факторами транскрипции в восьмой хромосоме, что ведет к увеличению фетального гемоглобина и ослаблению тяжести заболевания. Таким образом, скрининг  $\gamma$ G-гена и уровня фетального гемоглобина в раннем детстве поможет управлять клинической картиной  $\beta$ -талассемии и предотвратить тяжелые последствия болезни.

Однако молекулярный анализ ДНК выявил по-

лиморфизмы только в 5'Сар-регионе, представляющие собой (AT)7(T)7 и (AT)8(T)5 микросателлитные участки в положениях -551 и -521, ведущие к компенсаторной экспрессии  $\beta$ -глобинового гена, вследствие чего наблюдалось мягкое течение заболевания у гомозиготных больных. Данная методика позволяет определить аллельное разнообразие, связанное с разными типами мутаций  $\beta$ -талассемии, изучить нуклеотидные вариации в генах  $\beta$ -глобинового кластера и их ассоциации с  $\beta$ -мутациями в целях исследования генетической основы клинического разнообразия в республике. Исследования подобных случаев представляют особый интерес, т.к. они могут выявить некоторые ассоциации полиморфизмов нуклеотидных последовательностей в кластерах с низкой экспрессией  $\beta$ -глобина и, следовательно, различия в фенотипах  $\beta$ -талассемии.

Таким образом, проведенные биохимические и молекулярно-генетические комплексные исследования, а также установление фенотипов и генотипов в каждой конкретной популяции составят основу общереспубликанского регистра врожденных и наследственных патологий, что поможет врачам при перспективной и ретроспективной медико-генетической консультации выявить наследственные аномалии в неонатальный период, успешно проводить дифференциальную диагностику и назначить эффективное лечение.

#### БЛАГОДАРНОСТЬ:

Данная работа выполнена при финансовой поддержке Фонда Развития Науки при Президенте Азербайджанской Республики – Грант № EIF-Mob-2-2013-4(10)-13/06/3.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Healthcare, social security and housing conditions in Azerbaijan // Statistical publication. Baku. 2012.-226 p.
2. Васильева Е.М., Баканов М.И., Гордеева Г.Ф. и др. Фосфолипидный состав эритроцитов при неврологических нарушениях у детей // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.-2002. - № 7.-С.41-44.
3. Васильева Е.М., Баканов М.И., Зубкова И.В. и др. Биохимические изменения эритроцитов при детском церебральном параличе и других органических поражениях центральной нервной системы // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.- 2005. -№ 9.-С.38-41.
4. Bojesen A, Gravholt CH. Klinefelter syndrome in clinical practice // Nat Clin Pract Urol- 2007. – V.4.- P.192–204.
5. Lanfranco F, Kamischke A, Zitzmann M, Nieschlag E. Klinefelter's syndrome// Lancet.- 2004. – V.364.-P.273–283.
6. Zinn AR, Ramos P, Elder FF, et al. Androgen receptor CAGn repeat length influences phenotype of 47,XXY (Klinefelter) syndrome// J Clin Endocrinol Metab.-2005. – V.9.-P.5041-5046.
7. Zitzmann M, Depenbusch M, Gromoll J, Nieschlag E. X-chromosome inactivation patterns and androgen receptor functionality influence phenotype and social characteristics as well as pharmacogenetics of testosterone therapy in Klinefelter patients// J Clin Endocrinol Metab.-2004. – V.89.- P.6208-6217.
8. Geschwind DH, Dykens E. Neurobehavioral and Psychosocial Issues in Klinefelter Syndrome //Learning Disabilities Research & Practice.-2004. – V.19(3).- P.166.
9. Van Rijn S, Aleman A, Swaab H, Kahn RS. 2005. Neurobiology of emotion and high risk for schizophrenia: role of the amygdala and the X-chromosome // Neurosci Biobehav Rev.-2005. – V.29(3). – P.385-397.
10. Tikmani SS, Warraich HJ, Abbasi F, et al. Incidence of neonatal hyperbilirubinemia: a population-based prospective study in Pakistan // Trop Med Int Health.- 2010. – V.15(5).-P.502–507.
11. Maisels MJ. Neonatal jaundice//Pediatr Rev.- 2006. – V.27(12).-P.443–454.
12. Minucci A, Moradkhani K, Hwang MJ, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) mutations database: Review of the “old” and update of the new mutations// Blood Cells Mol Dis.- 2012. – V.48.-P.154–165.
13. WHO/EURO. From Malaria Control to Elimination 2006-2015 in the WHO European Region // World Health Organization Regional Office for Europe. 2006.
14. WHO. World Malaria Report 2011. // Geneva: World Health Organization. 2011.
15. Ibrahimov F, Ibrahimova A, Kehler J, Richardson E. Azerbaijan: Health system review: European Observatory on Health Systems and Policies. 2010.