

Немцова М.В.
Семинар 3
Медицинская генетика

**Фармация Курс 3 ЦИОП «Медицина
будущего»**

**Молекулярные механизмы образования
хромосомных перестроек с учетом структурной
организации хромосомных районов.
Микроделеционные синдромы: Ди-Джорджи,
Вильямса, Миллера-Диккера, вело-кардио-
фациальный. Методы диагностики
микроделеционных синдромов.**

Рекомбинация - это процесс, который обеспечивает перемешивание генов в ряду поколений.

- При формировании половых клеток гены, полученные от родителей, “перетасовываются”, и в каждую гамету попадает только половина родительских генов.
- Комбинация генов в зиготе происходит случайно.
- Сочетание этих двух случайных процессов, перемешивание генов в половых клетках и формирование из гамет зиготы, обеспечивает уникальность набора генов каждого организма.

Генетическая рекомбинация

- 1) Генетическая рекомбинация – это процесс реорганизации генетического материала посредством разрывов, обмена участками и воссоединения молекул ДНК
- 2) Генетическая рекомбинация является одним из основных источников наследственной изменчивости у всех живых организмов. Это определяет ее важную роль как в эволюции, так и в онтогенетической изменчивости.
- 3) Генетическая рекомбинация участвует в репарации двунитевых разрывов ДНК.
- 4) Для рекомбинации необходим физический контакт между рекомбинирующими участками ДНК – **синапсис**.
- 5) Генетическая рекомбинация бывает **гомологичная** и **негомологичная**

Гомологичная рекомбинация

Мейотическая рекомбинация

У эукариот наиболее типичен обмен участками гомологичных хромосом в мейозе. Этот обмен может происходить между плотно конъюгированными хромосомами на ранних стадиях развития половых клеток.

Митотическая рекомбинация

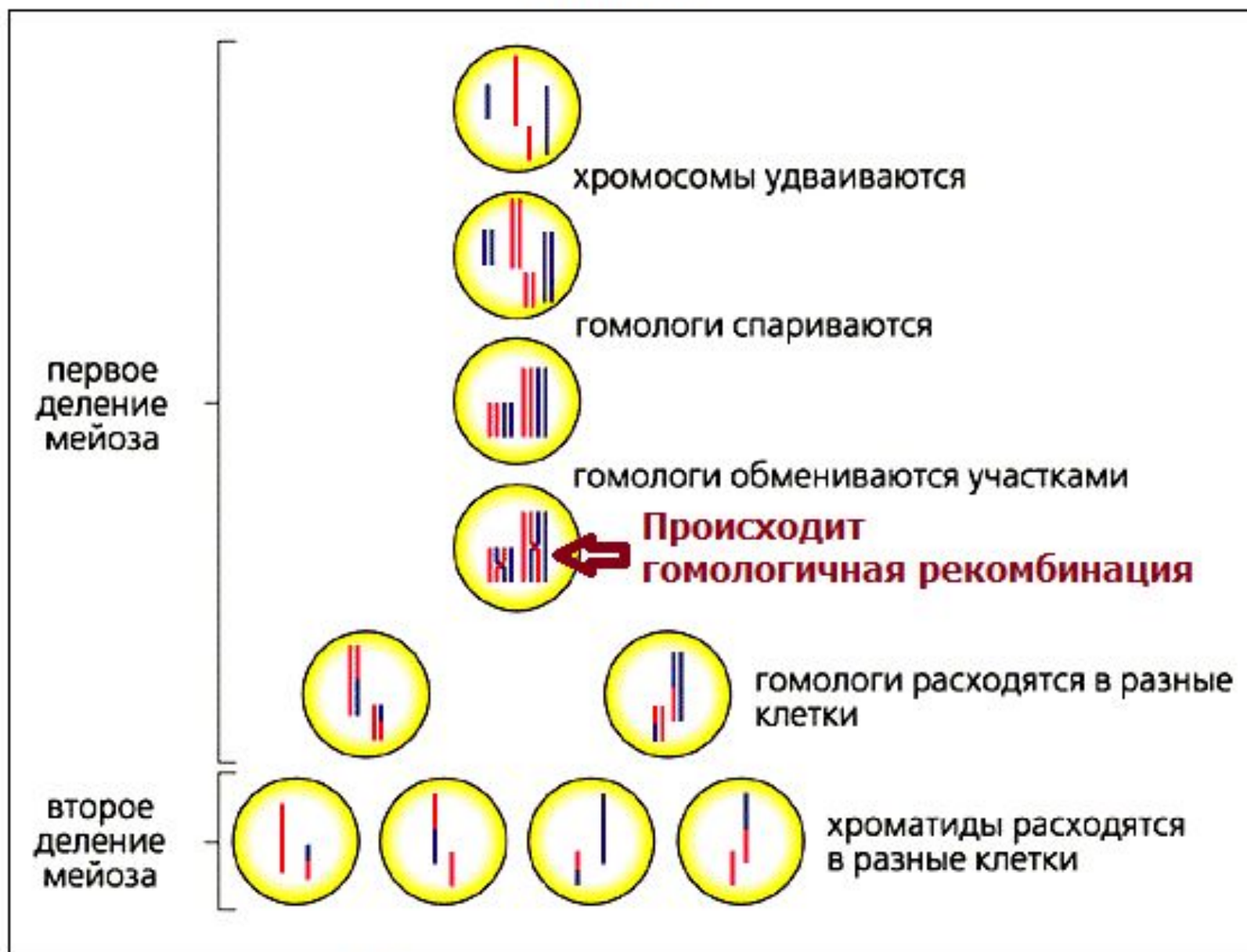
□ Осуществляется в митозе, направлена на репарацию разрывов в ДНК

□ Может сопровождаться нежелательными последствиями (например, возникновением мозаицизма).

□ Может быть вызвана рентгеновским облучением клеток на стадии G2 клеточного цикла.

Индукцированная митотическая рекомбинация - метод изучения действия генов в процессе развития.

Схема мейоза.



Красным обозначены материнские хромосомы, синим - отцовские.

Основные функции гомологичной рекомбинации

□ Репарация ДНК

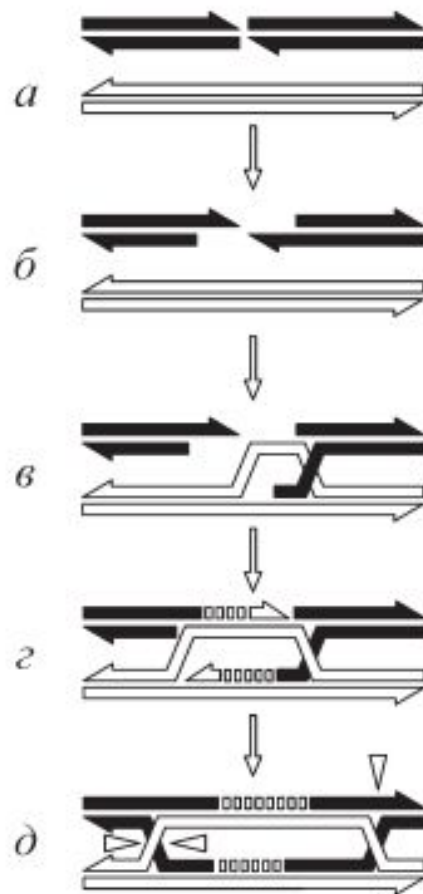
Восстановление разрушенной репликационной вилки Точное устранение двухцепочечных разрывов и др. повреждений ДНК

□ Обмен генетической информацией между двумя гомологичными хромосомами

Создаются новые сочетания последовательностей ДНК в каждой из хромосом, что может иметь потенциальную эволюционную выгоду

□ Образование и сохранение физической связи между гомологами до их расхождения в первом делении мейоза.

Если между парой гомологов не произошло ни одного обмена, то они могут неправильно разойтись к полюсам деления. Тогда у одних гамет будет избыточная доза генов, а у других этих генов не будет вовсе. И то, и другое чаще всего ведет к гибели организмов



a — на одном из двух рекомбинирующих дуплексов ДНК эндонуклеаза Spo11 создает двухнитевой разрыв;

б — 5'-концы разрезанного дуплекса деградируют благодаря функционированию белкового комплекса Rad50/Mre11/Xrs2 с образованием выступающего одноцепочечного 3'-конца;

в — один из 3'-концов вторгается в интактный гомологичный дуплекс, образуя D-петлю;

г — D-петля расширяется в результате репаративного синтеза ДНК, где 3'-концы выступают праймерами; процесс завершается сшивкой цепей ДНК лигазой IV;

д — миграция ветвей ведет к формированию двух структур Холлидея;

ж — разрешение двух структур Холлидея в противоположных направлениях приводит к реципрокному обмену между фланкирующими маркерами (кроссинговер).



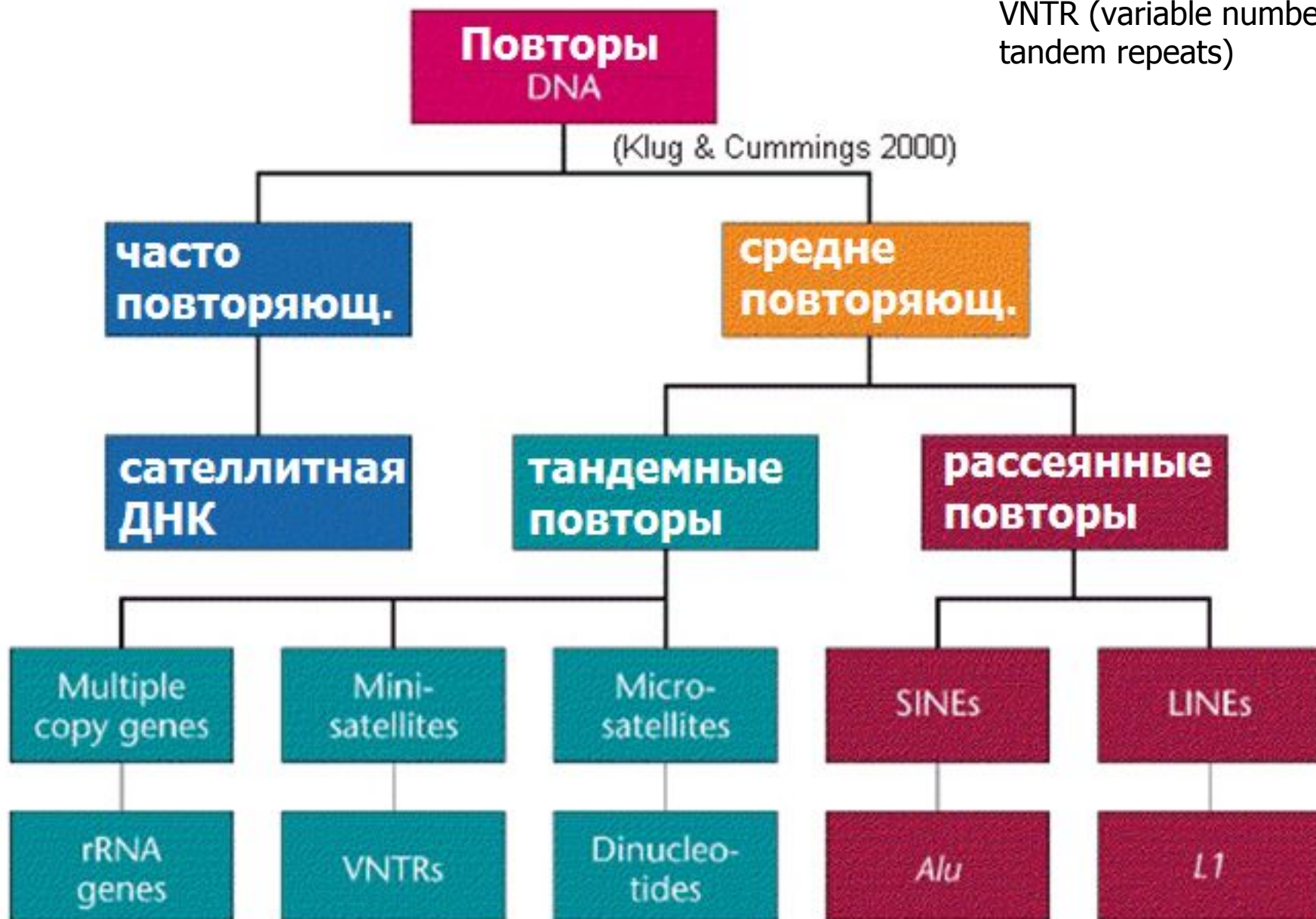
e — если обе структуры Холлидея разрезаются в одинаковом направлении, то сохраняется исходная конфигурация фланкирующих маркеров (конверсия);

Молекулярные механизмы и организация районов перестроек

- **НАГР** – неаллельная гомологичная рекомбинация
Основным субстратом для рекомбинации являются повторяющиеся элементы генома
 - кластеры низкокопийных повторов – 10-500 т.п.н., до 98% гомологии
 - располагаются в «горячих точках», в субтеломерных или прицентромерных районах
- **НГКП** – негомологичное концевое присоединение
 - АТ- богатые палиндромы, рассеянные повторы Alu, транспозоны
- **ПМПР** – переключение матрицы в процессе репликации

Повторяющиеся последовательности в геноме

VNTR (variable number tandem repeats)



Тандемные повторы, включая кластеры генов

Псевдогены

Мобильные элементы



рассеянные тандемные повторы



рассеянные тандемные повторы



тандемные повторы, ассоциированные с центромерой



рассеянные ретроэлементы



тандемные повторы, ассоциированные с теломерой и субтеломерными районами



уникальные и низкокопийные последовательности, включая гены и псевдогены

характеристика «горячих точек рекомбинации»

1. Наличие минимального гомологичного фрагмента у низкокопийных повторов, обладающих высокой нуклеотидной схожестью или идентичностью.

Экспериментально, на культурах мышинных клеток показано, что снижение гомологии между повторами с 232 до 134 пар нуклеотидов приводит к 20-кратному снижению межхромосомной рекомбинации.

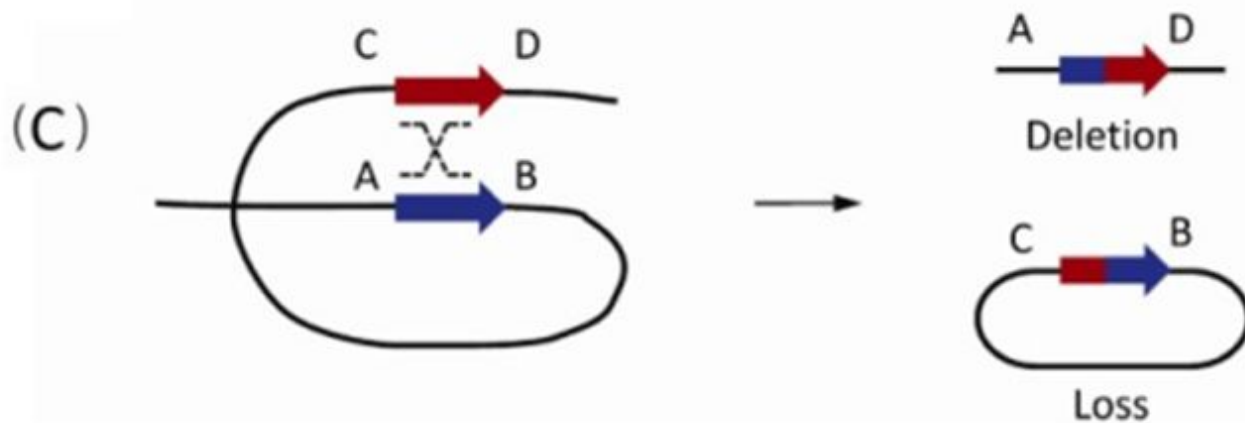
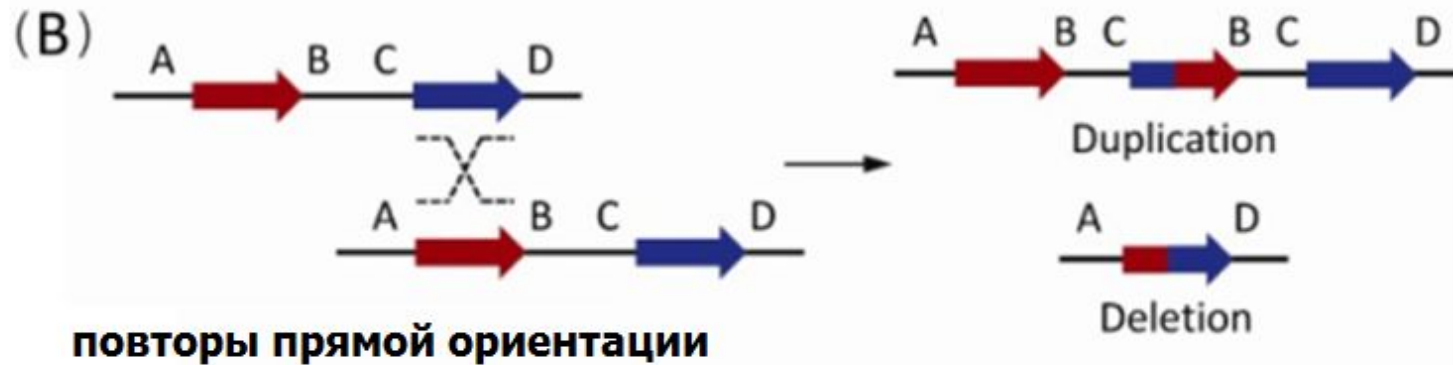
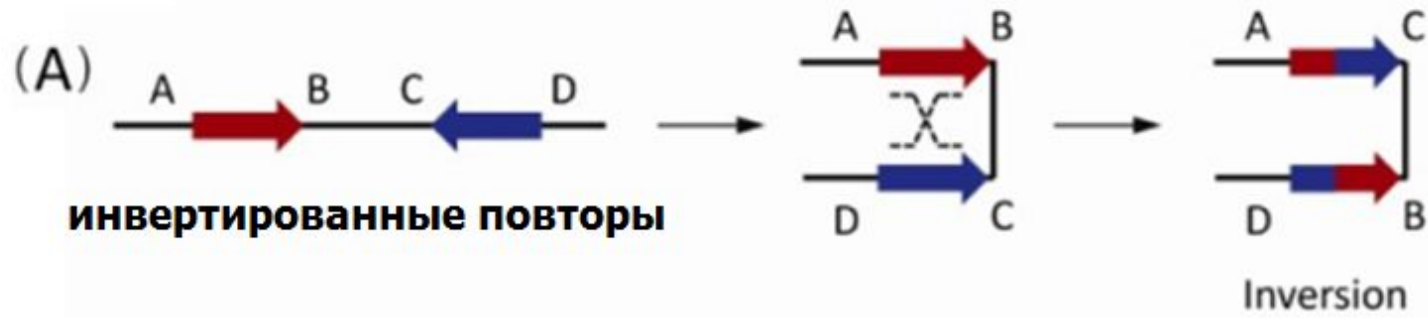
2. Наличие в этих районах АТ-богатых палиндромных последовательностей.

Большие палиндромные последовательности обладают высокой нестабильностью в клетках мышинных культур. Они подвергаются перестройкам, и особенно делециям, с частотой примерно 56%.

3. Наличие cis-активирующих элементов, таких как транспозон-подобные и минисателлитные последовательности

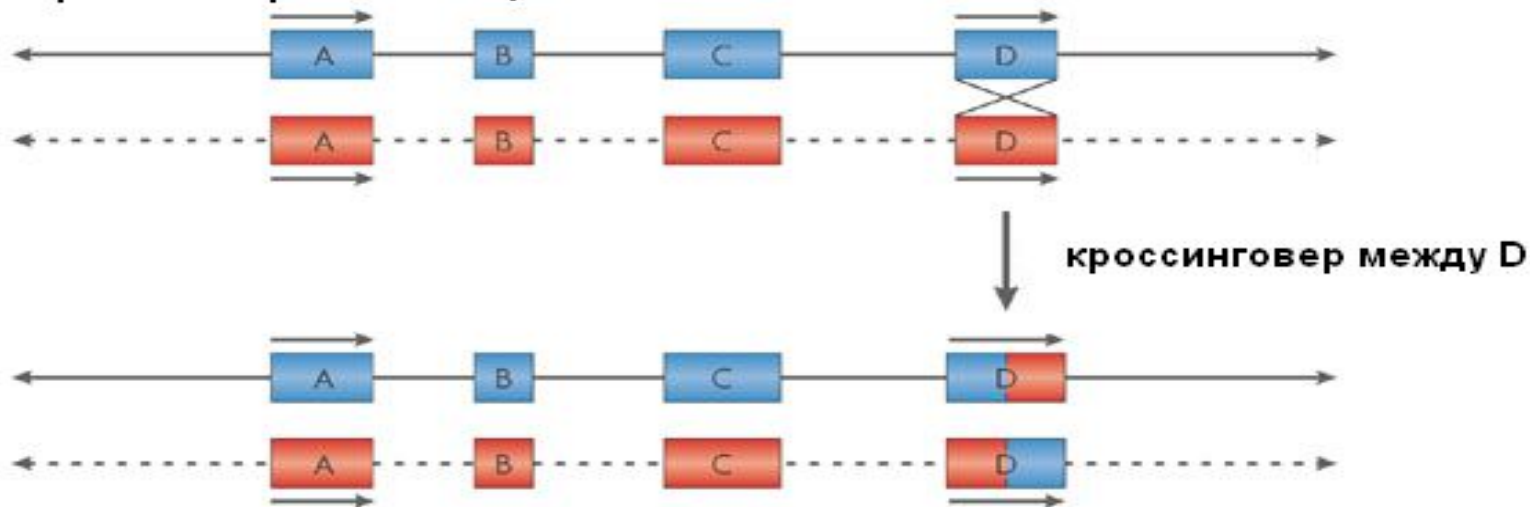
Они напрямую не связаны с рекомбинационными событиями, но их присутствие повышает способность клетки к образованию двуцепочечных разрывов ДНК.

Механизм образования делеций и дупликаций

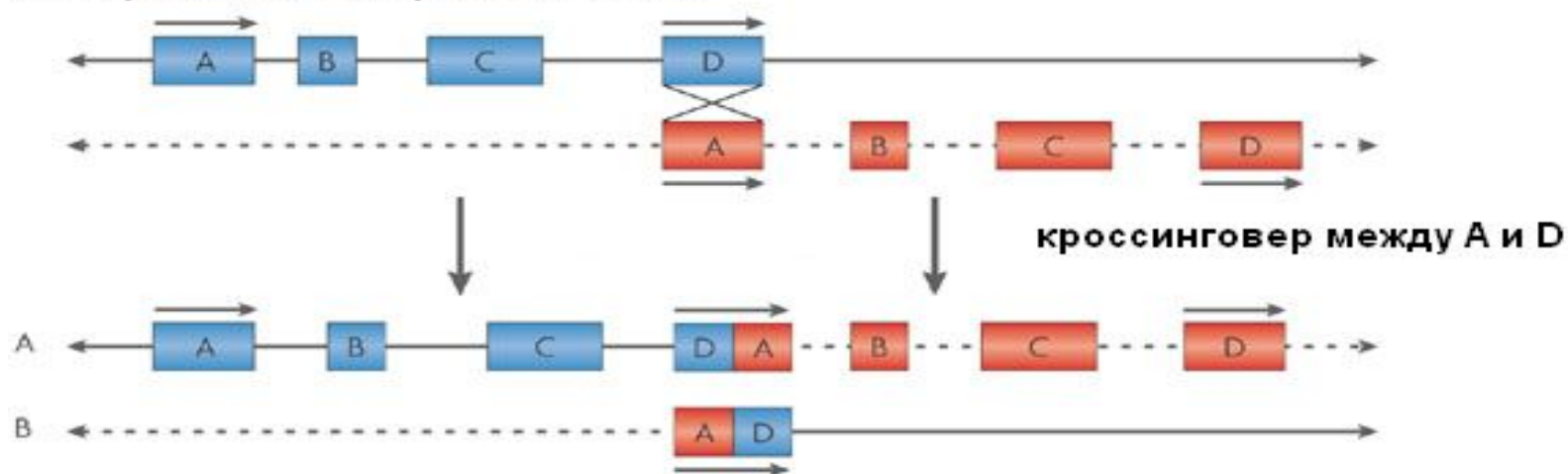


Механизм образования интерстициальных делеций и дупликаций

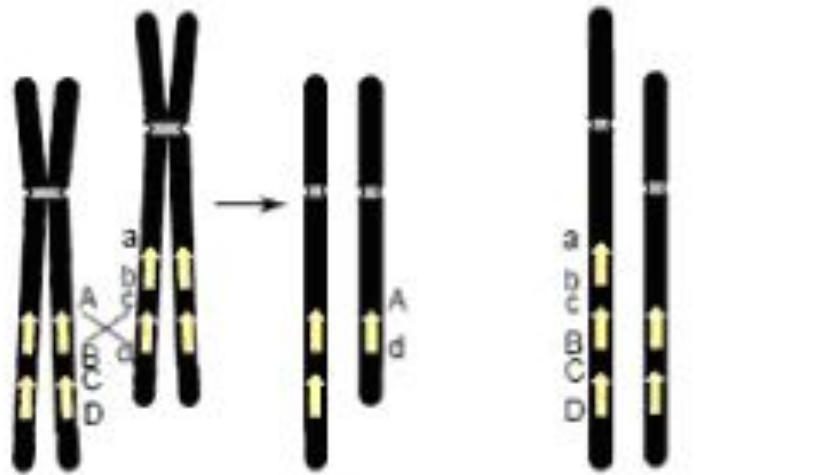
а Нормальная рекомбинация



б Неравновесная рекомбинация



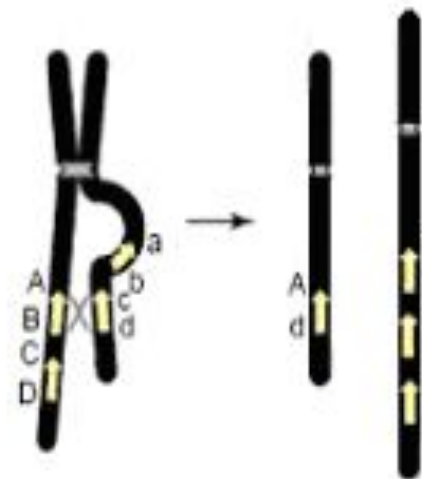
межхромосомная НАГР



делеция

дупликация

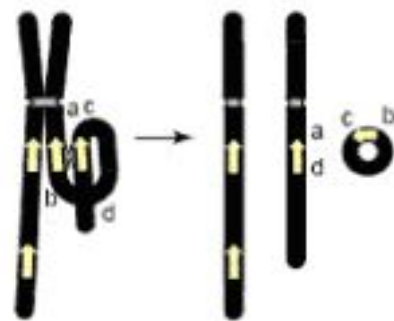
межхроматидная НАГР



делеция

дупликация

Внутрихроматидная НАГР



делеция

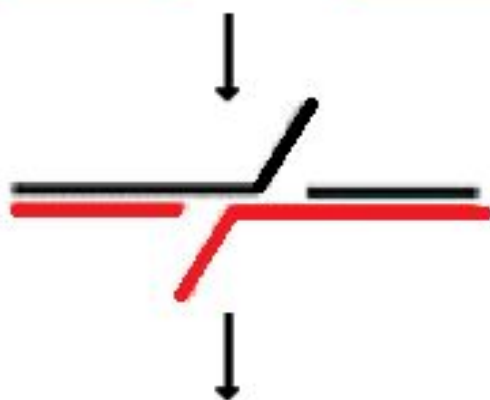
Негомологичное концевое присоединение

 ДНК

↓
двухцепочечный разрыв



↓
модификация концов

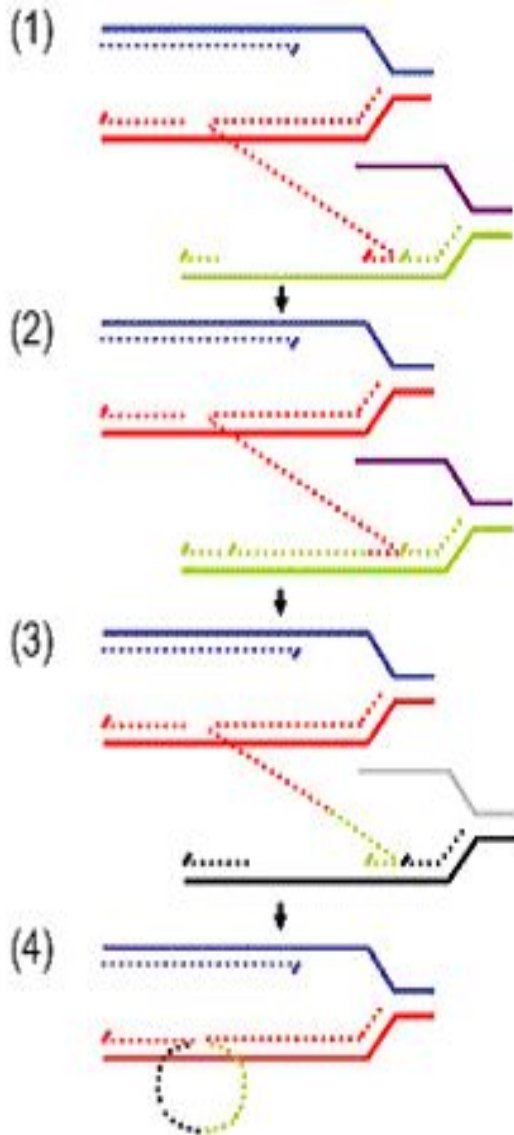


Отжиг ДНК в районах
микрогомологии
2-4 нуклеотида
и удаление
одноцепочечных
концевых фрагментов



Достраивание цепи ДНК
на противоположной
матрице и лигирование

Остановка репликативной вилки с последующим переключением матрицы



(1) Остановка синтеза ДНК на обратной цепи-матрице (красная цепь). Соскальзывание синтезированного фрагмента и отжиг его в районе микрогомологии на другой репликативной вилке (сплошная зеленая линия)

(2) Используя место гомологии в качестве зыгавки для полимеризации, происходит достраивание еще одной цепи (зеленая пунктирная линия)

(3) Вновь образованная цепь опять соскальзывает со второй матрицы и отжигается на третьей (черная сплошная линия), происходит полимеризация и образование нового фрагмента (черная пунктирная линия)

(4) Возврат полученной цепи на старую матрицу и завершение репликации.

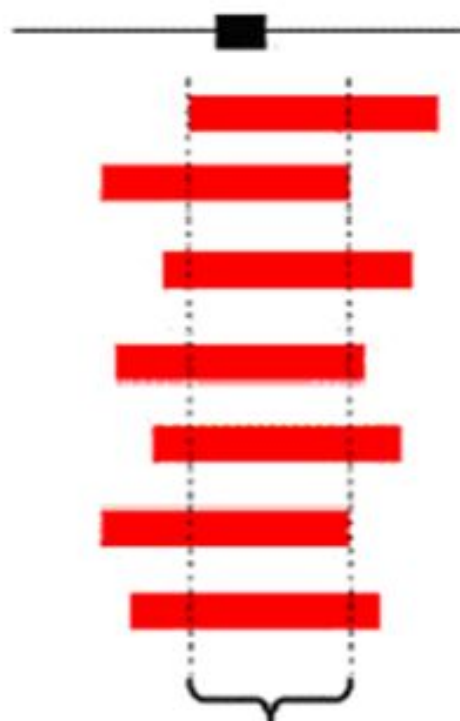
	Геномные перестройки		
	стандартные	нестандартные	
механизм	НАГР	НГКП	ПМНР
Точки разрыва	кластеризованы	разбросаны	разбросаны
Субстрат	Низкокопийные повторы с высокой степенью гомологии	АТ-богатые полиндромы, транспозоны, Alu, LINE, -ТТТААА-	GC-обогащение, Alu-обогащение, повторы и районы с минимальной гомологией
Основная причина перестройки	Гомологичные взаимодействия	Двухцепочечные разрывы	Ошибки в процессе репликации
Размер перестройки	млн.п.н.	От нескольких нуклеотидов до нескольких десятков	т.п.н.

**Стандартные
(распространенные)**



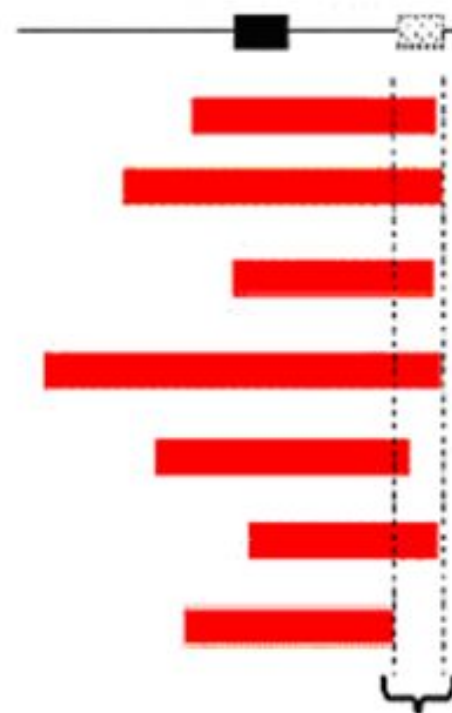
**Кластеризованные
точки разрыва**

Нестандартные



**Наименьший район
перекрывания всех
делеций**

**Нестандартные с группировкой
точек разрыва**



Группировка точек разрыва

 - ген

 - Низкокопийный повтор (LCR)

 - Геномные элементы, приводящие к разрывам ДНК

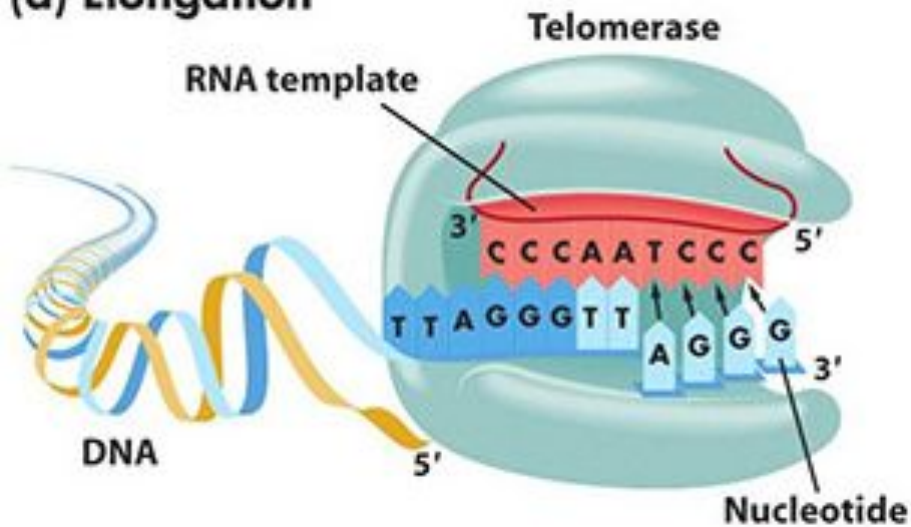
Терминальные делеции

Восстановление теломеры

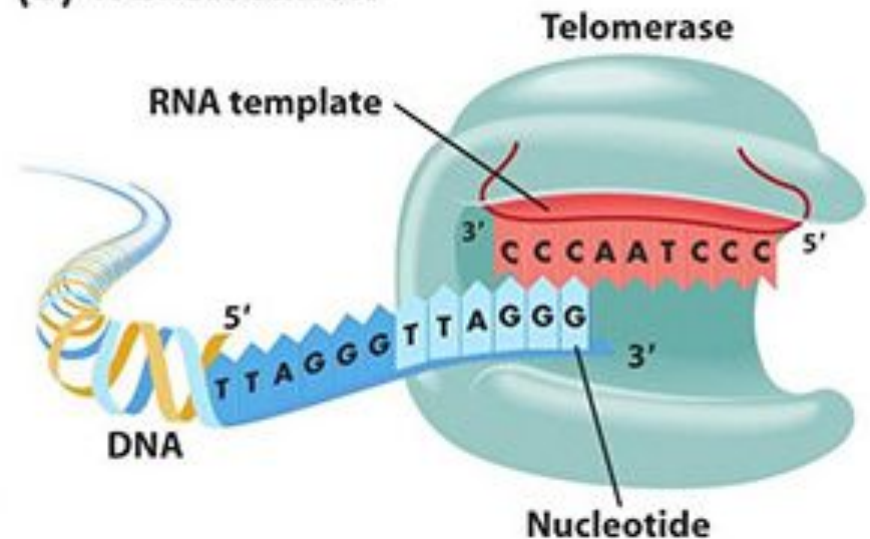
- теломерное залечивание – добавление теломерных повторов непосредственно на хромосомный конец
- теломерный захват - присоединение теломерных повторов с другой хромосомы



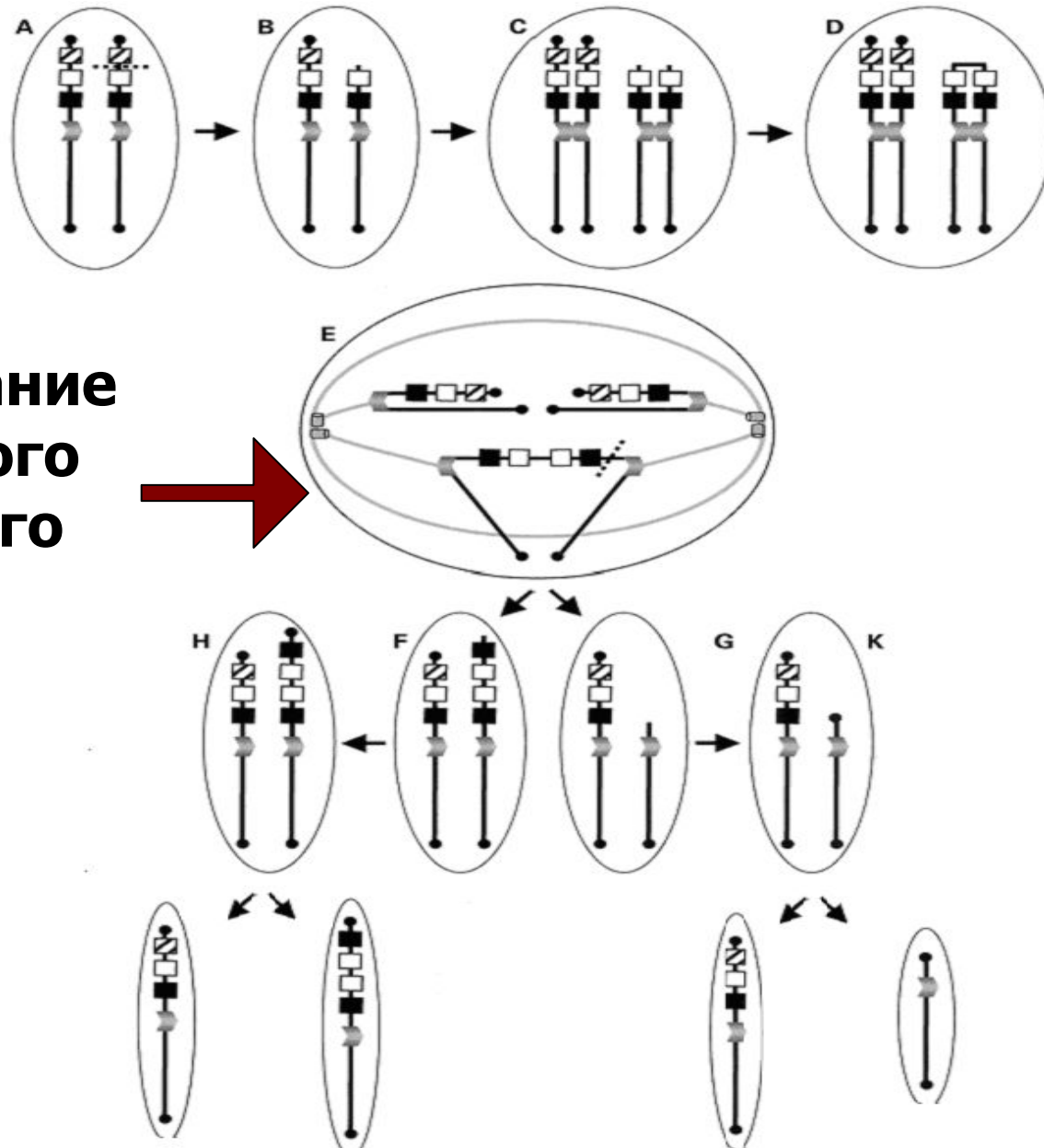
(a) Elongation



(b) Translocation



Механизм формирования теломерных делеций и дупликаций



Образование
анафазного
моста и его
разрыв

Нозологические формы, сопровождающиеся микрохромосомными аномалиями

<i>. с-м Вольфа-Хирихорна</i>	<i>del(4)(p16)</i>
<i>. с-м “кошачьего крика”</i>	<i>del(5)(p15.5)</i>
<i>. с-м Вильямса</i>	<i>del(7)(q11.2)</i>
<i>. с-мы Лангера-Гидиона и ТРФС-I</i>	<i>del(8)(q24.1)</i>
<i>. с-мы WAGR и Денниса-Драша</i>	<i>del(11)(p13)</i>
<i>. с-м Видеманна-Беквита</i>	<i>dup(11)(p15.3)</i>
<i>. с-м DEFECT 11</i>	<i>del(11)(p12)</i>
<i>. с-м Прадера-Вилли</i>	<i>del(15)(q11.2-q13)</i>
<i>. с-м Ангельмана</i>	<i>del(15)(q11.2-q13)</i>
<i>. с-м Рубинштейна-Тейби</i>	<i>del(16)(p13)</i>
<i>. с-м Смита-Магениса</i>	<i>del(17)(p11.2)</i>
<i>. с-м Миллера-Дикера</i>	<i>del(17)(p13.3)</i>
<i>. с-м Алладжила-Уотсона</i>	<i>del(20)(p11.2)</i>
<i>. с-мы ДиДжорджи и вело-кардио-фауциальный</i>	<i>del(22)(q11.21)</i>
<i>. Ретинобластома и остеосаркома</i>	<i>del(13)(q14.1)</i>
<i>. Нейрофиброматоз, тип I</i>	<i>del(17)(q11.2)</i>

Характеристика микроделеционных синдромов

1. Наличие протяженной делеции

Размер от видимой в микроскоп до определяемой молекулярными методами

Синдром Вильямса - 1,5-1,8 м.п.н

Синдром Прадера-Вилли и Ангельмена – 4,5-5 млн.п.н.

Синдрома Ди-Джорджи и CATCH22 - 1,5 - 3 млн.п.н.

2. Механизм: неаллельная гомологичная рекомбинация

- Наличие низкокопийных кластеров повторов или псевдогенов по краям зоны делеции
- Кластеризация точек разрыва
- Наличие района наименьшего перекрывания всех делеций

3. Большое количество генов в районе наименьшего перекрывания всех делеций - синдромы генных последовательностей

– до нескольких десятков в зоне делеции

4. Выделение одного главного гена

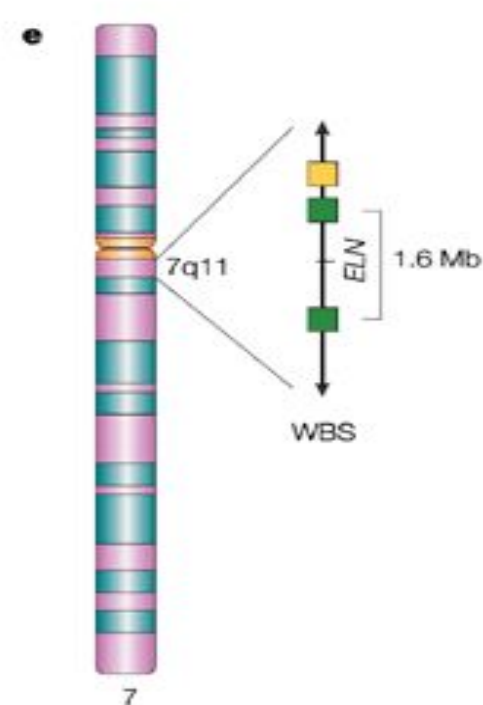
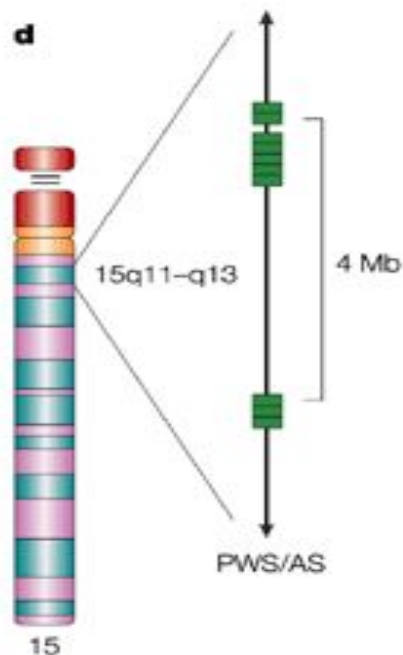
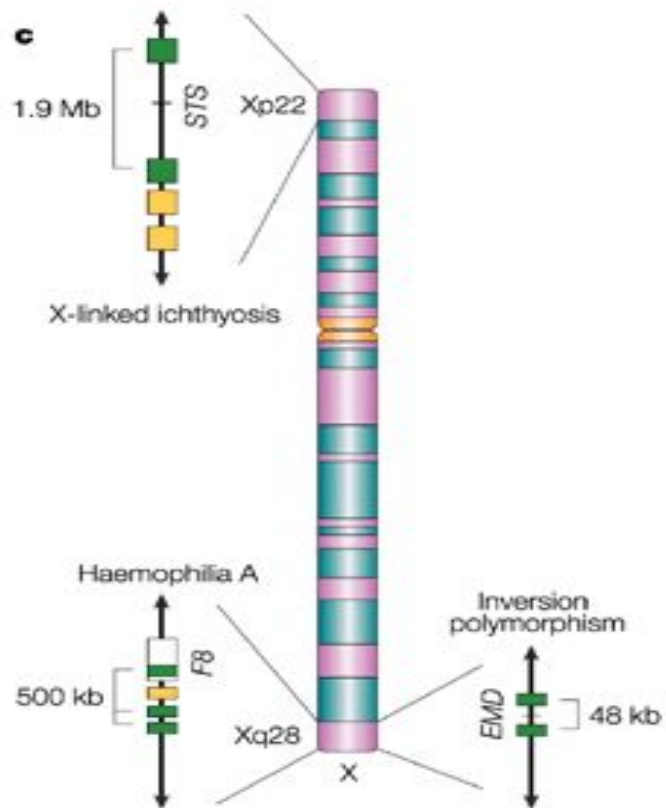
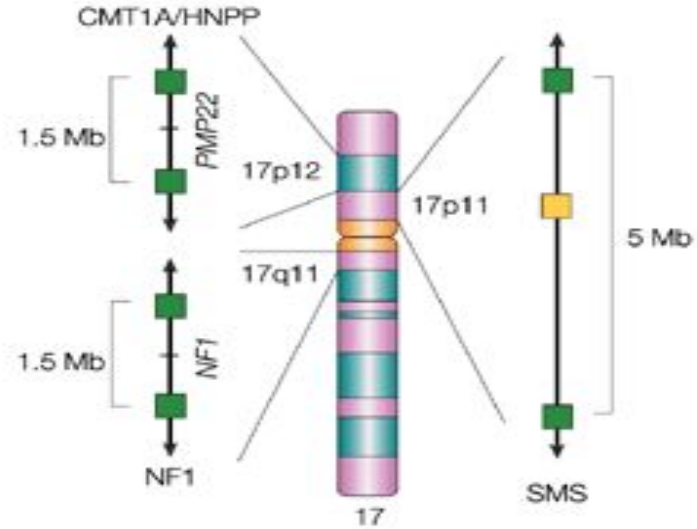
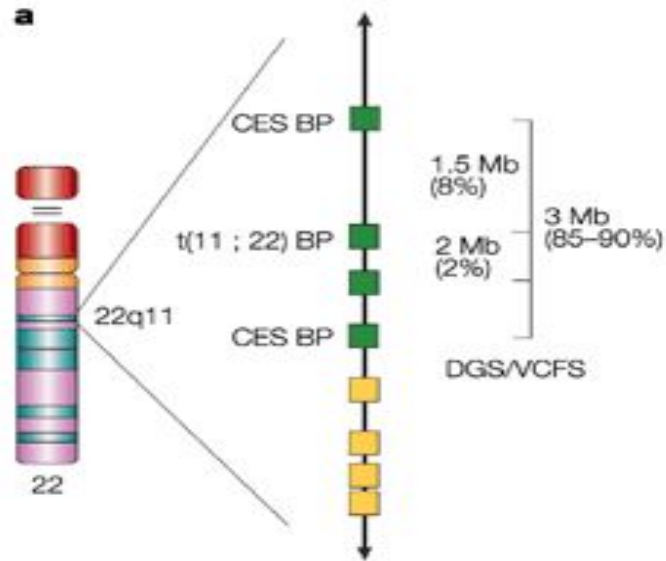
Синдром Вильямса *ELN*

Синдром Смита-Магениса *RAI1*

Синдром Ди-Джорджи и CATCH22 *TBX1*

Синдром Миллера-Дикера *LIS1*

Синдром Ангельмана *UBE3A*



Методы диагностики микроделеционных синдромов

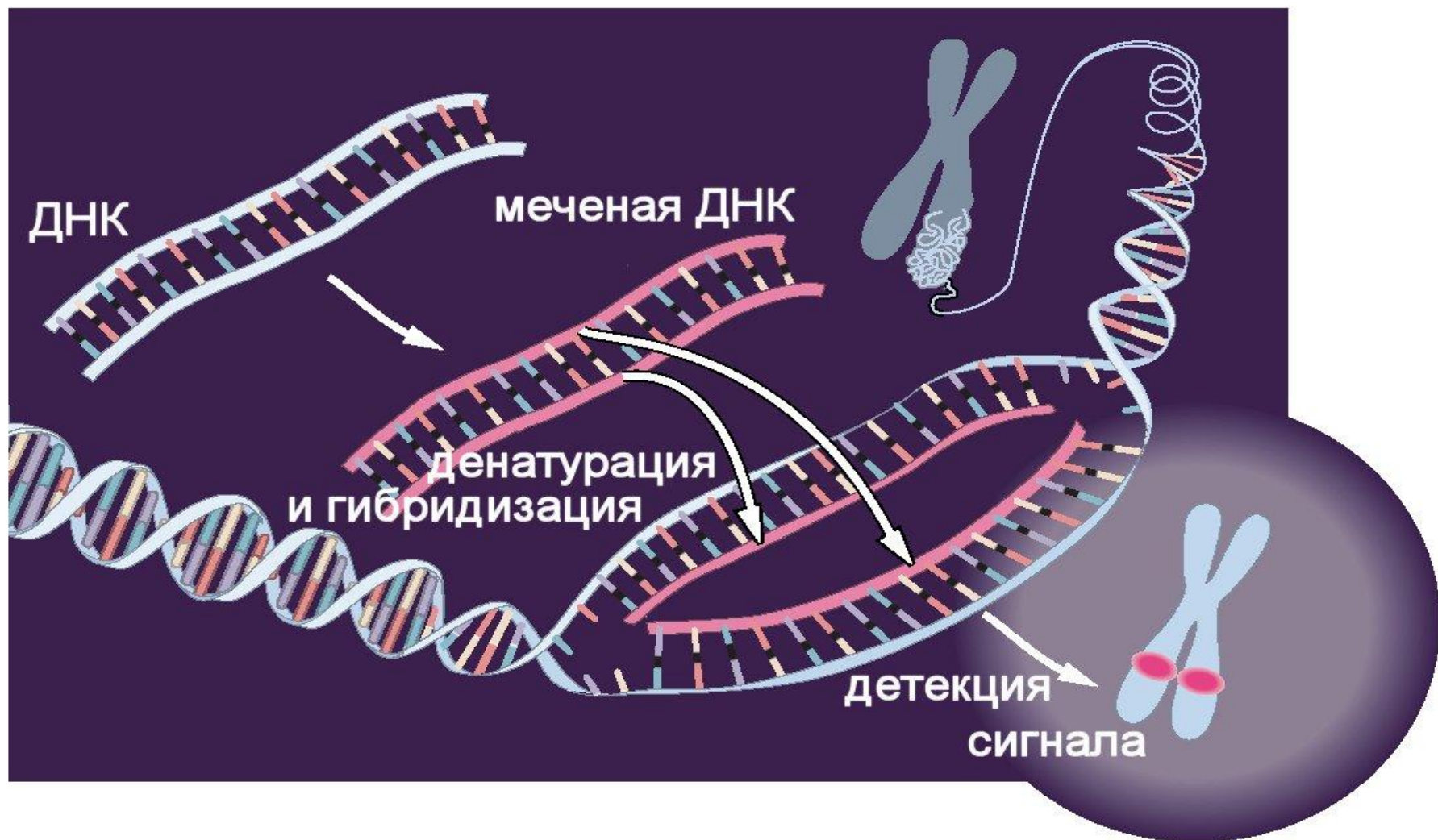
Цитогенетические методы

- **Кариотипирование**
- **Метод FISH**

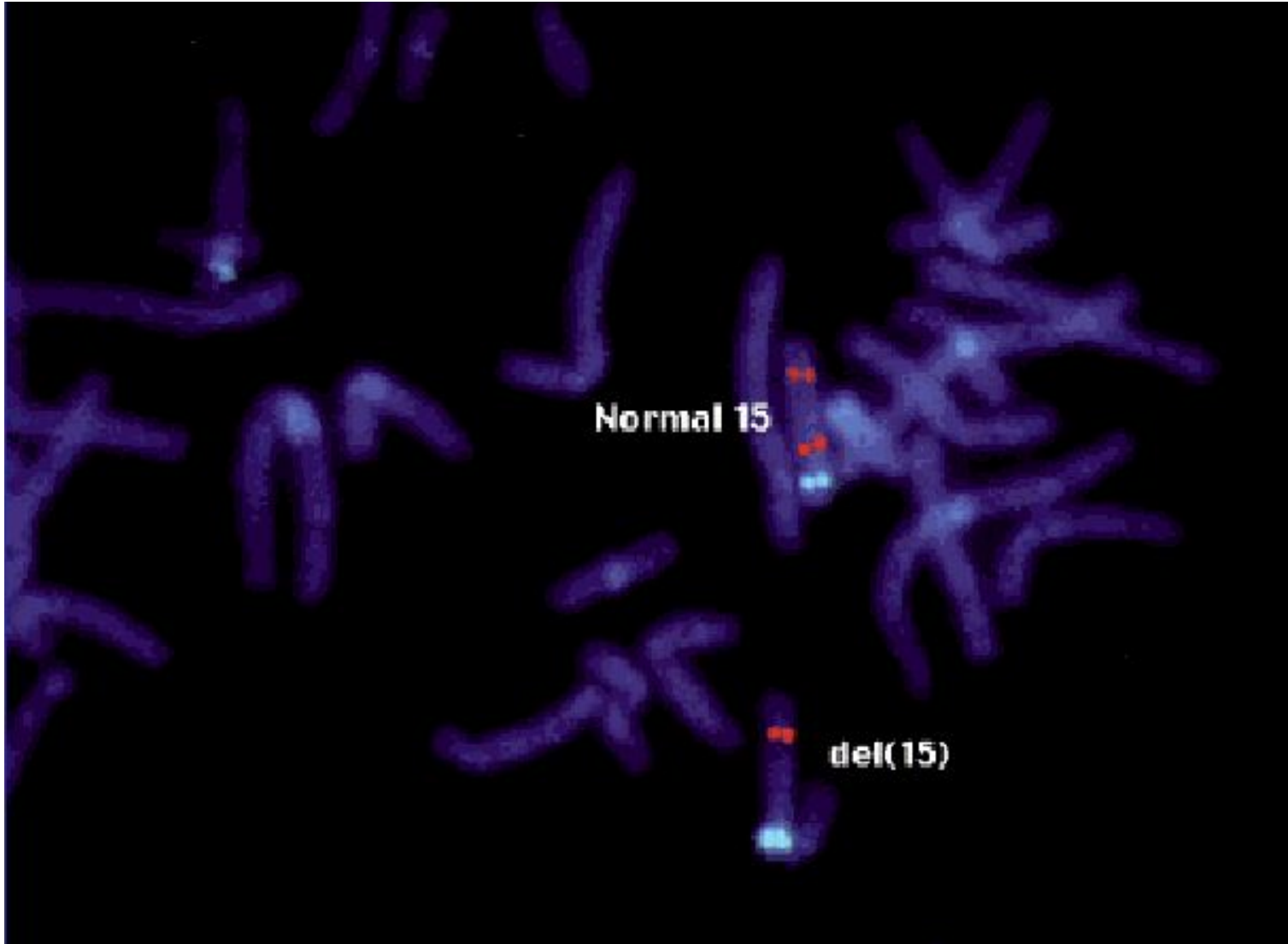
Молекулярно-генетические методы

- **Микросателлитный анализ**
- **MLPA**
- **Микроматричный анализ**

Принцип метода гибридизации *in situ*



Определение микроделеции при синдромах Прадера-Вилли и Ангельмана



Определение микроделеции при синдроме ДиДжорджи



Микросателлиты –это фрагменты ДНК с большим количеством – до сотни и даже выше – tandemно повторяющихся идентичных «мотивов», обычно называемых «повторами»: короткими последовательностями из нескольких (как обычно принято считать – от одной до шести) пар нуклеотидов.

D1S243

**TGAGCCTCCC ACGCCTCAGT TTCCCCTGCA GAAAACACCC TGCATCCAAn
ACGGGCCTTG GTGTCCAGCC CTGGGGCGGA AACnCCGnAC GCATGTCCAC
ACACGTGtAG GCACGCGGGC ACACACAGGC TCACATGCCT GnACnCATGC
GCGCGCGCAC **ACACACAC ACACACACAC ACACACACAC ACACACACAC**
ACACACACGG GTGTTACCAA AACGGCCCCG CCTGAATCGC TGAGGCCTCG
ACCCAAGGCC GGAAAAGTCC ATGACGCTGG AGCAGGGATG AGGTnCCATT
CCAGCAGGCT GGGGGAGG**

D22S1245

**GCAGGGTGTGGTGGCGAGTGCCTGTAATCTCAGTTACTTGGGAGGCTGAGGCAGGAGAA
TTCCTTGAACCTGGGAGGCAGAGGTTGCAGTGAGCTGAGACCCAGCCAGTGCACCTCAG
CCTGGGCAACAAGAGTGGAACCTGGGACTCAGA**AAACAAAACAAAACAAAACAAAACAAA**
ACTGGTTAACATGTAACТАAGTCTAAACAAGCATTТАTTTTCCGACAGGGTТАGТААТАAC
AGAGATGACTAATTGGAGATAACAACATGGACAAAACCTATATAGGATGAGAGGAGCG
AT**

D22S368

**TTTTTAAAGAACCAGCTTTTGGTTTCATTGATTACCCTCAACTGTGTATATATTTTTTTATT
CCATTGATTCTGATCTTTCCTTCTAATTCACCTTTCC**CTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTT**
CTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTT
TCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTGTCCCTCCCT
CTTCCTCTTCCTCTTCCTCTCTCTTTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTT
CTGTTGCCAGGCTGGAGTCCAGTGACACTATCACAGCTTACTGCAGCCTTGACCTCCTG
GGCTCAAGCGATCCTTCAGCCT**

Микросателлитный анализ

Преимущества: простота и доступность метода ПЦР

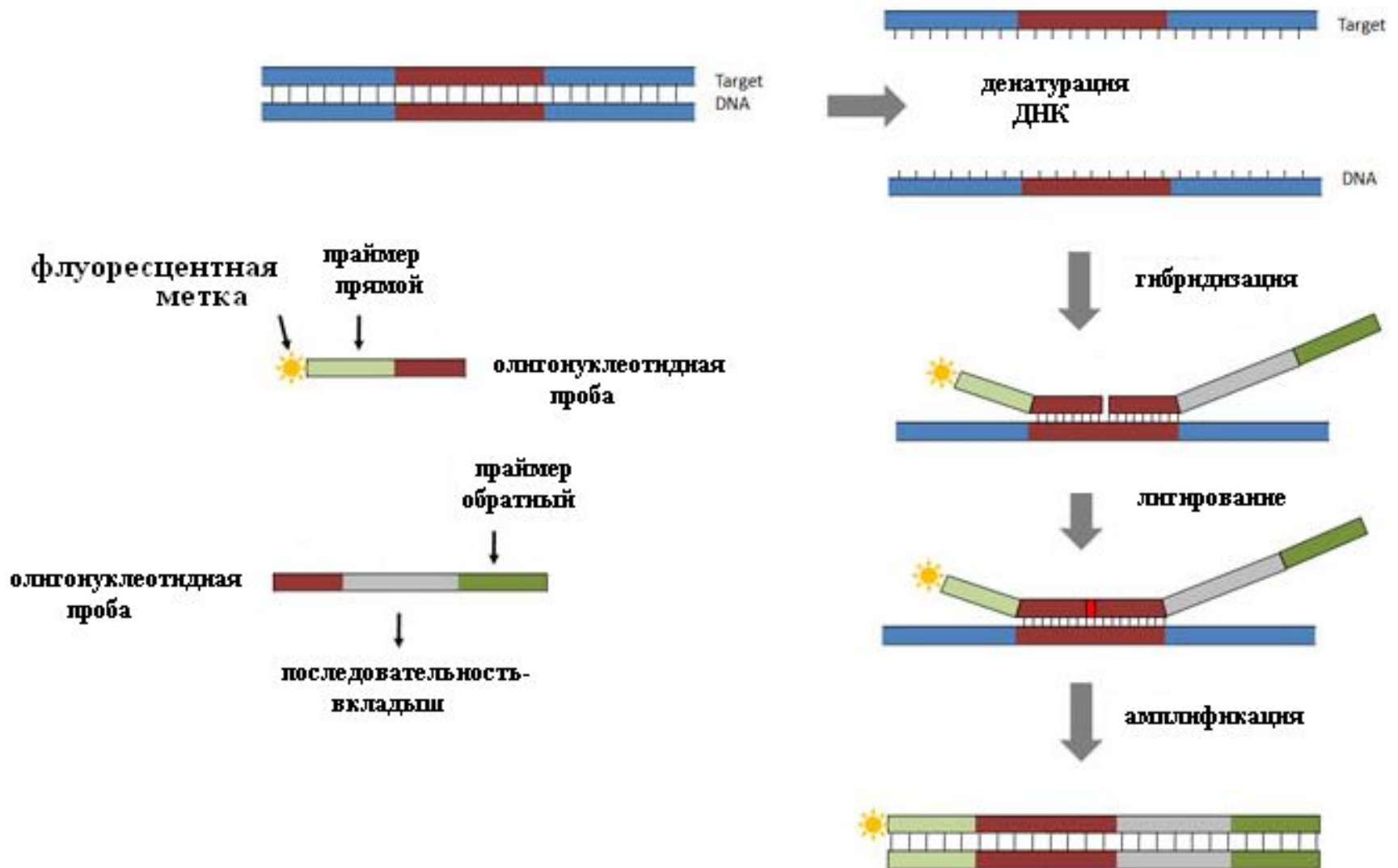
Объект исследования:

Повторяющиеся последовательности генома (ди-, три-, тетрануклеотидные)

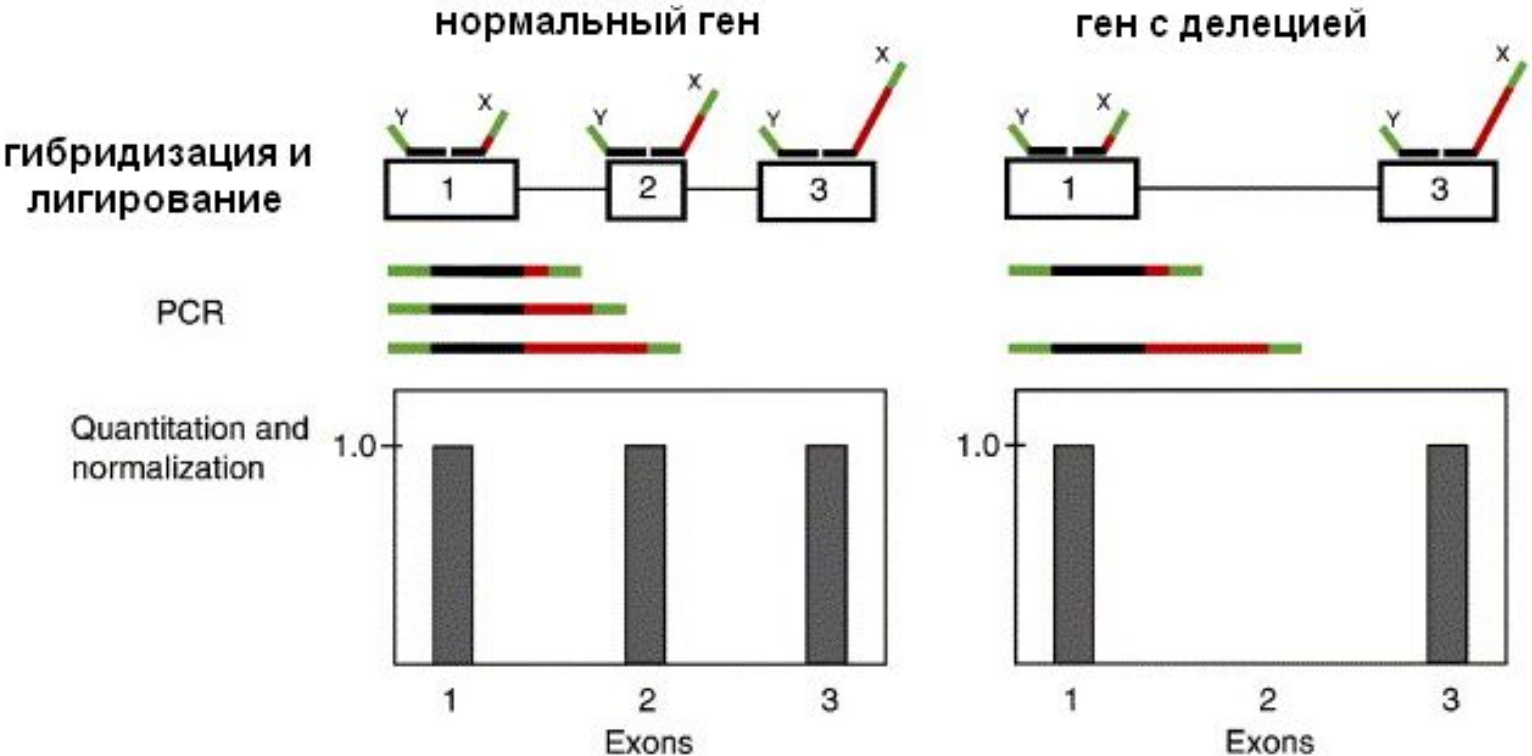
- Высокая гетерозиготность (выше 80%)
- Высокий полиморфизм (более чем два аллеля)
- Необходимость использования для диагностики нескольких маркеров
- Правильное расположение маркеров в районе наименьшего перекрывания всех делеций
- Расположение маркеров рядом (или внутри) главного гена-кандидата

Сложность: тщательная научная разработка системы маркеров до создания из нее диагностической системы маркеров

Метод MLPA

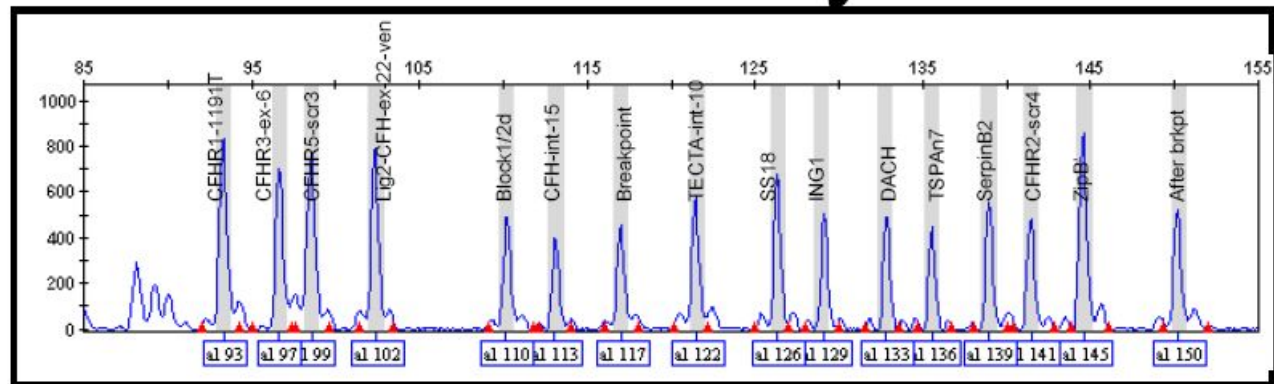


Определение делеций методом MLPA

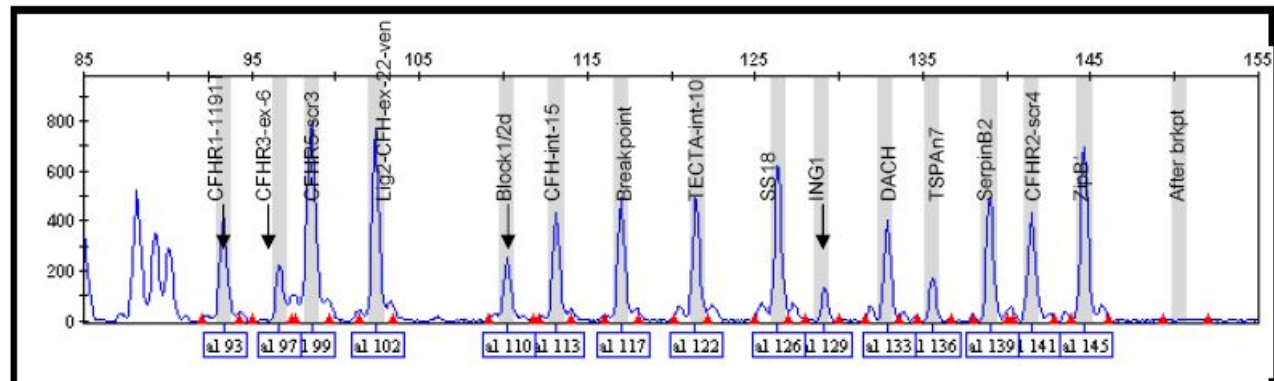


MLPA assay

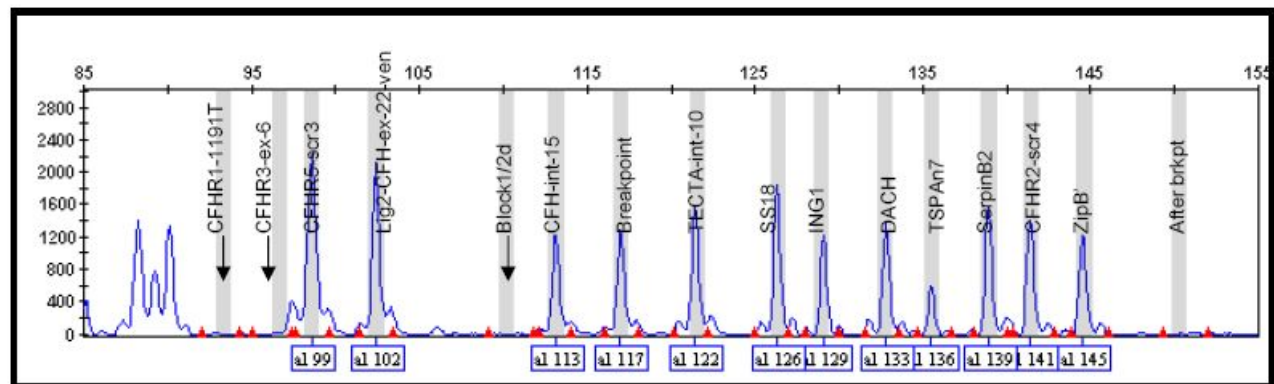
Wild type



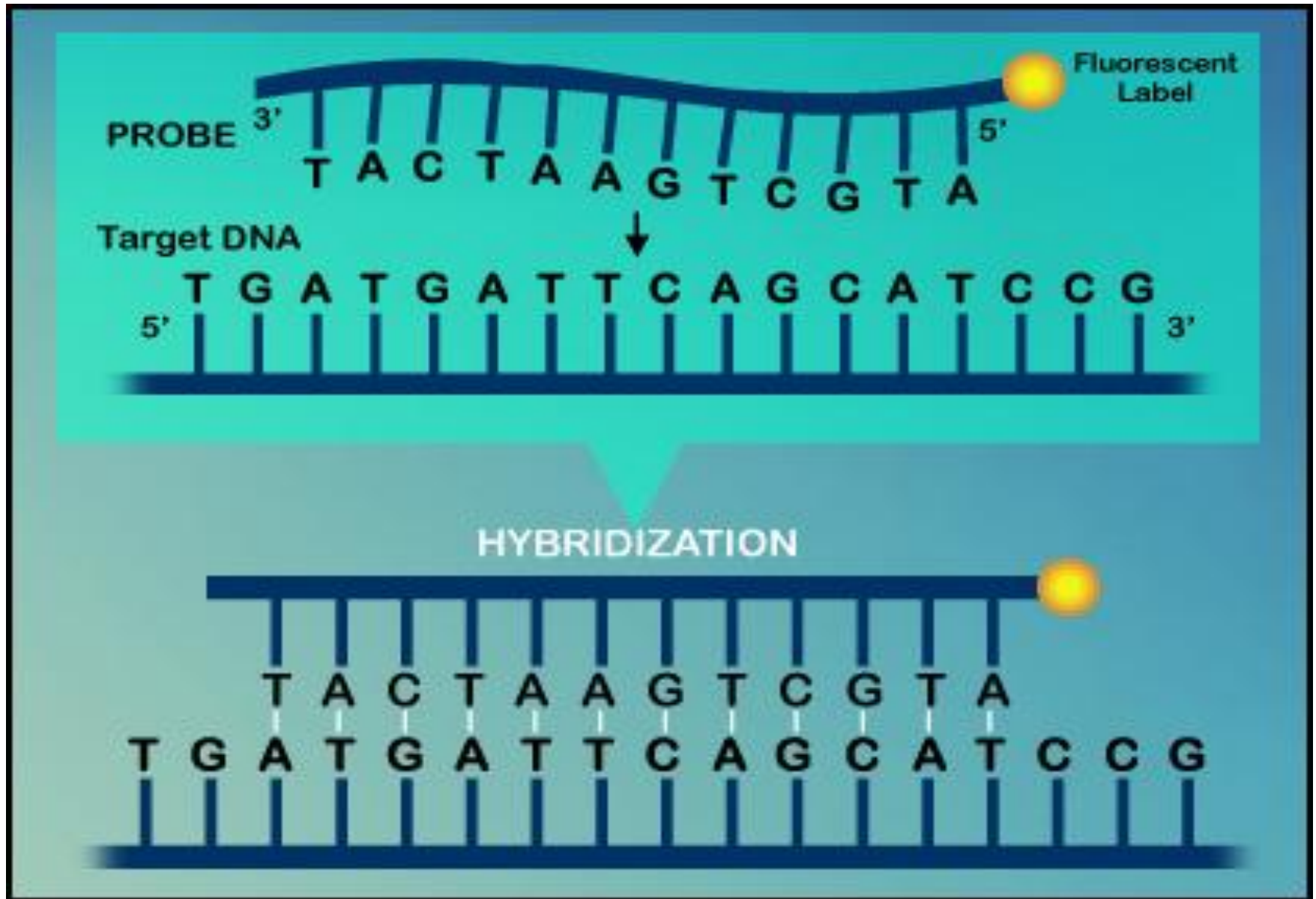
Heterozygous Deletion



Homozygous Deletion



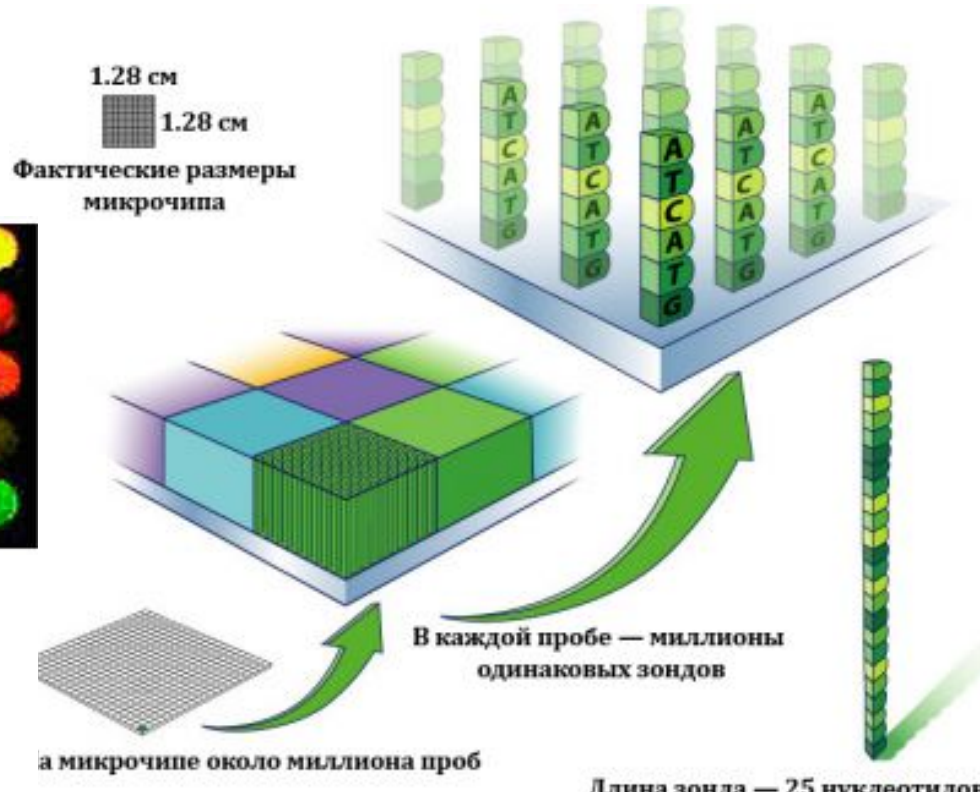
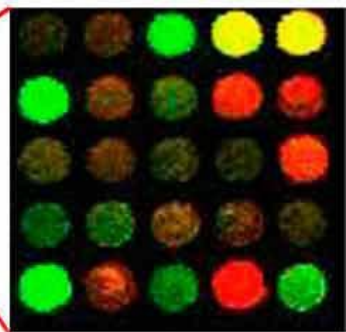
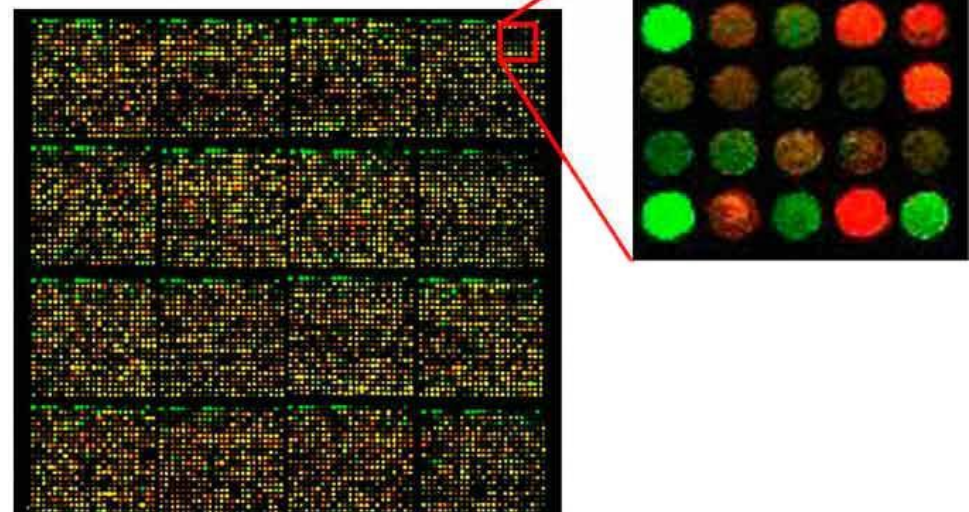
Гибридизация ДНК-ДНК



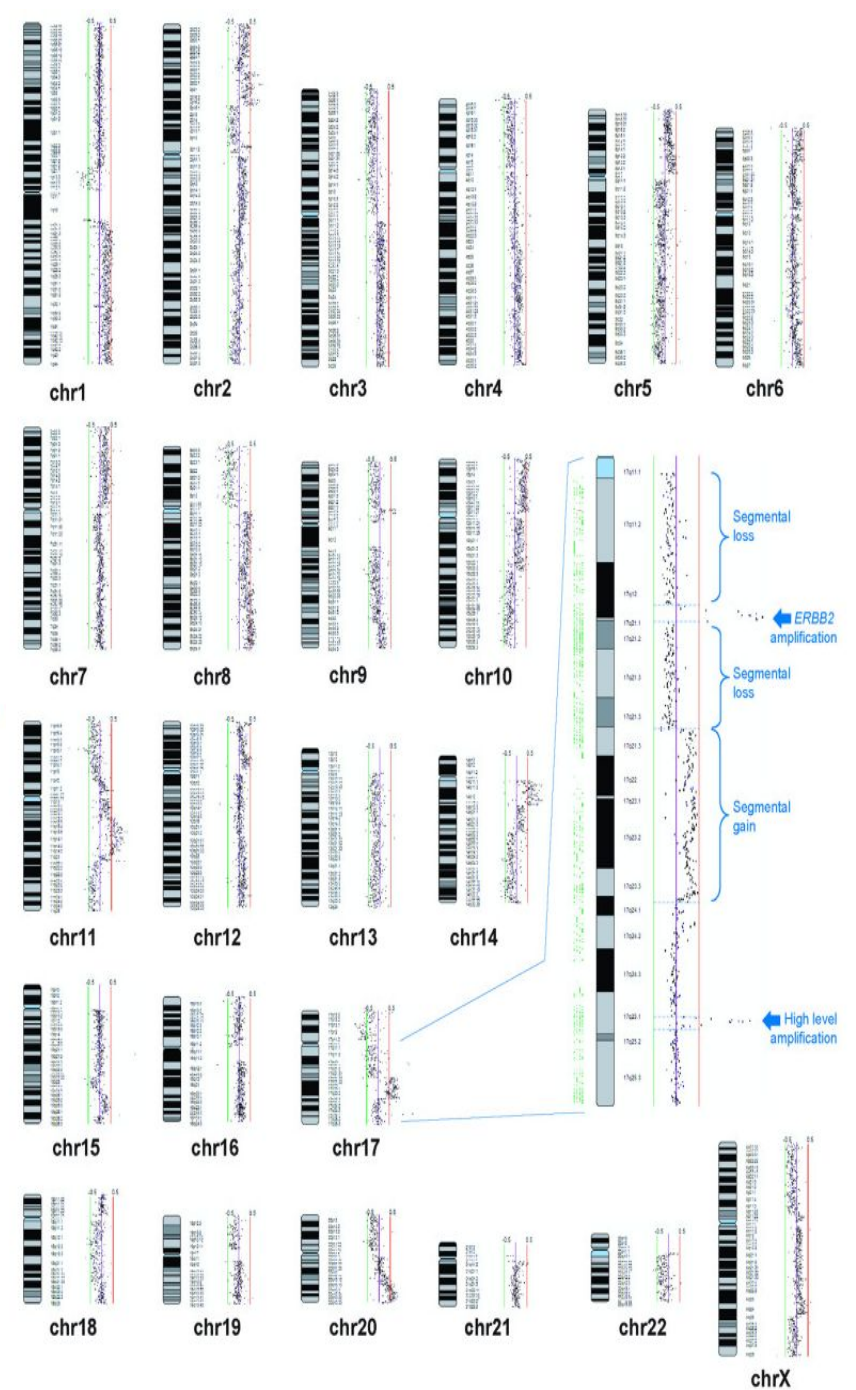
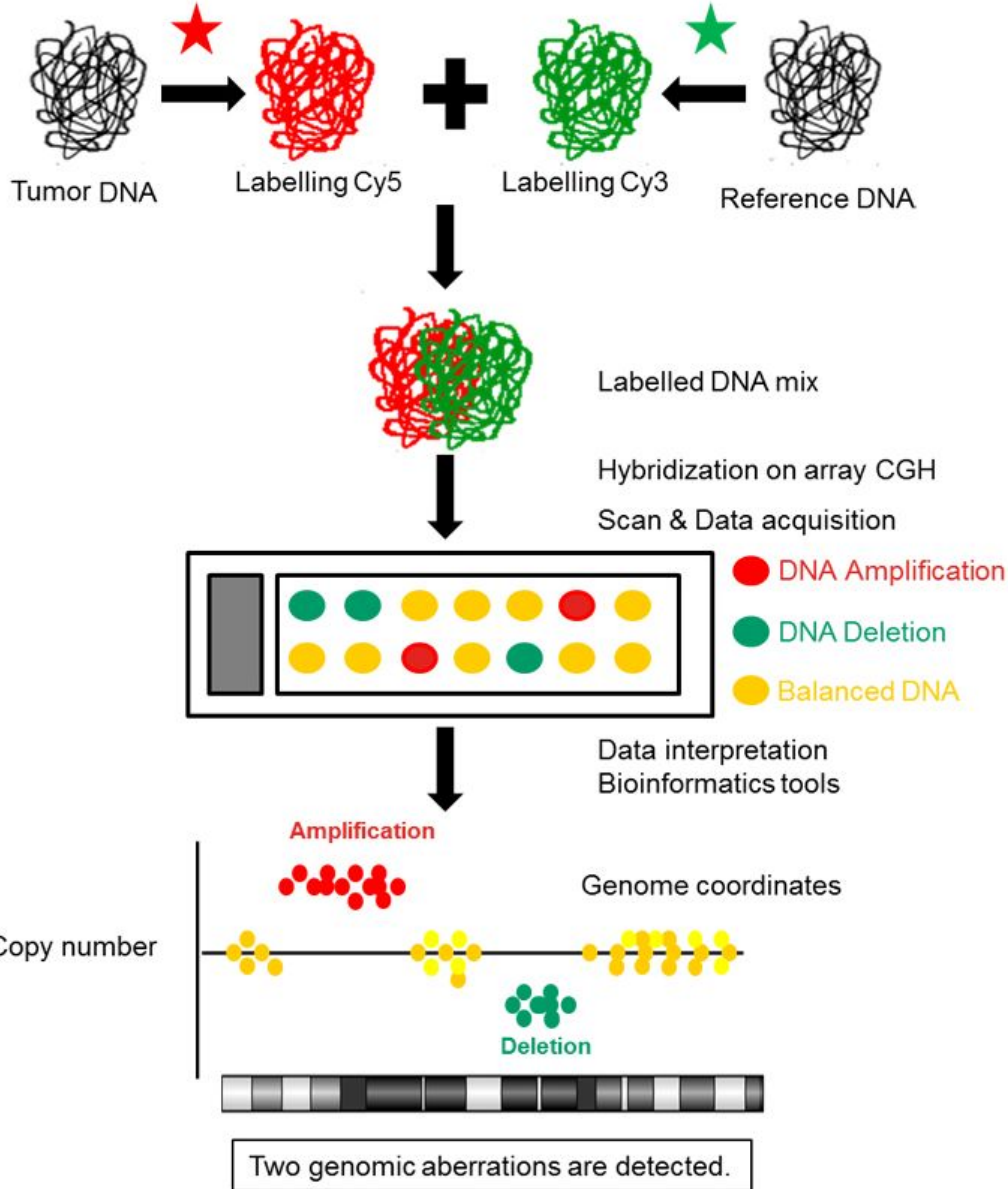
Технология микрочипов.

- Микрочип – совокупность ДНК последовательностей генома человека, закрепленная на твердой подложке в компьютерные программы для анализа результатов
- ПОЗВОЛЯЕТ исследовать сразу множество генов или продуктов их экспрессии
- гибридизация с ДНК

Результат ДНК-микрочипового исследования



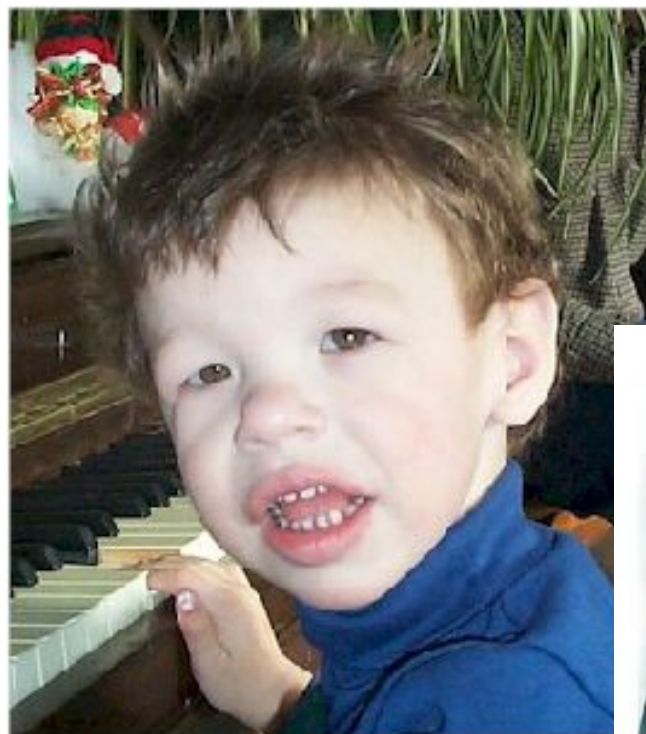
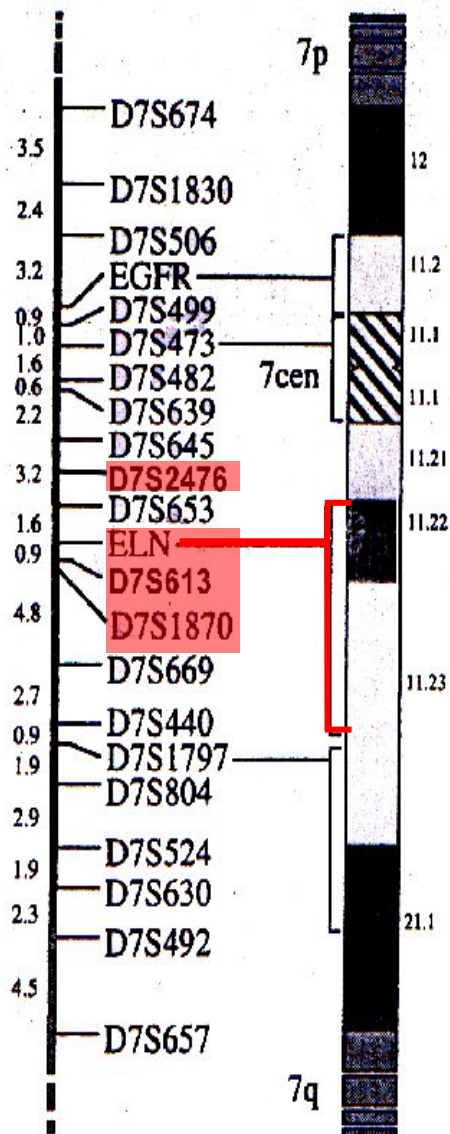
Comparative Genomic Hybridization



Сравнительная геномная гибридизация и микроматричный анализ

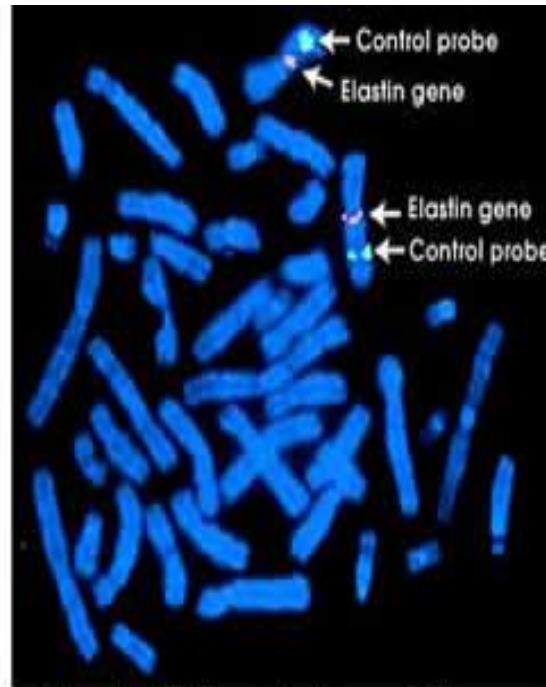
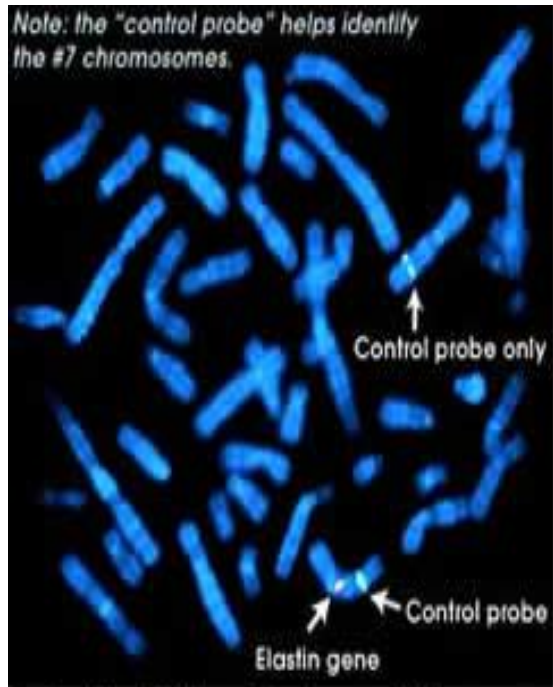
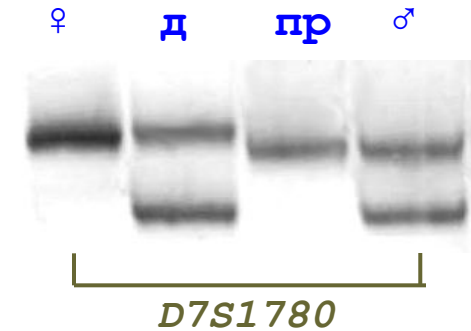
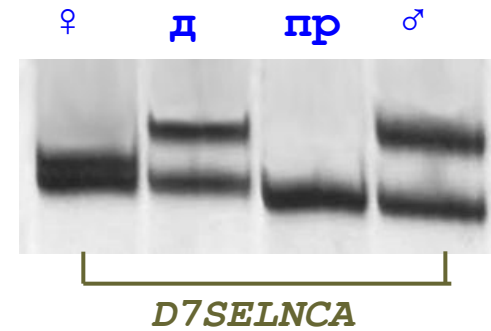
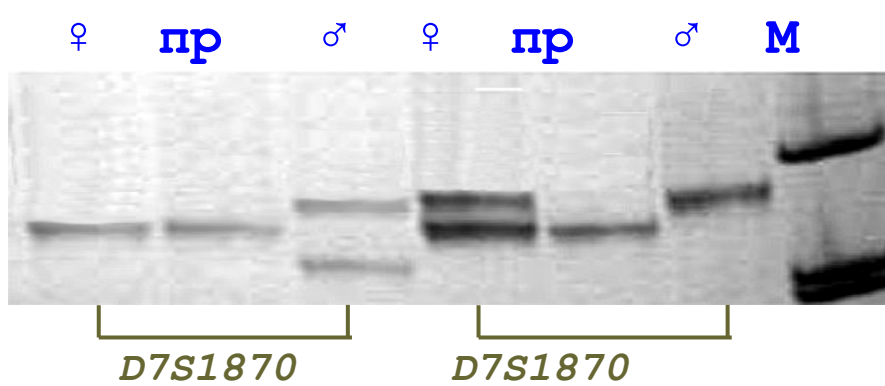
- **Позволяет исследовать копийность хромосомных локусов и определять хромосомные поломки**
- **Позволяет выявить хромосомные районы, стандартно подвергающиеся перестройкам, с потерей или появлением дополнительного хромосомного материала.**
- **Позволяет выявить новые структурные перестройки, связанные с клиническими синдромами**

Синдром Вильямса (del 7q11.23)



- лицевой дисморфизм, который получил название «лицо эльфа»,
 - умственная отсталость различной степени выраженности,
 - кардиальная патология - надклапанный стеноз аорты или легочной артерии,
 - гиперкальциемия
- Частота синдрома в популяции 1 на 7,5 000 - 10 000

Диагностика синдрома Вильямса



Positive Williams Syndrome FISH assay
(Chromosome 7)

The elastin gene is found on only one chromosome.
The other copy carries an elastin gene deletion.

Negative Williams Syndrome FISH assay
(Chromosome 7)

The elastin gene is found on both chromosomes.
This individual does not have Williams Syndrome.

Ген эластина картирован в 7q11.23 и состоит из 34 небольших экзонов. Размер его мРНК - примерно 3,5 т.п.н. 3'-конец этого гена обогащен Alu-повторами, что предрасполагает к участию в перестроенном процессе. Развитие некоторых клинических признаков при синдроме Вильямса напрямую связано с недостатком эластина. Этот белок является основным белком аорты (более 50%). Уменьшение содержания эластина в крупных кровеносных сосудах с возрастом вносит значительный вклад в развитие артериальной гипертензии. Практически все пациенты с синдромом имеют артериальную гипертензию.

Эластин является основным компонентом развития голосовых связок и мужских гениталий, поэтому у больных часто отмечается хриплый голос и гипогенитализм у мужчин.

С дефицитом эластина могут быть также связаны специфические черты лица и раннее старение кожи.

Однако, существуют больные с синдромом Вильямса (10%), у которых локус эластина сохранен. В этом случае, среди клинических проявлений, сохраняется лицевой дисморфизм и умственная отсталость, но отсутствуют пороки развития сердца и сосудов.

***ELN* является главным геном-кандидатом для развития синдрома Вильямса, однако вклад в развитие клинической картины вносят и другие гены, расположенные в районе делеции.**

Синдромы Диджорджи и вело-кардио- фациальный (del 22q11.2)



Основные клинические признаки связаны с врожденными пороками сердца,

- нарушение межжелудочковой перегородки, тетрада Фалло, стеноз легочной артерии и.т.

п.

- некоторая задержка умственного развития,
- расщелина или аномалии неба и лицевые аномалии,
- гипокальциемия,
- отсутствие или гипоплазия тимуса.

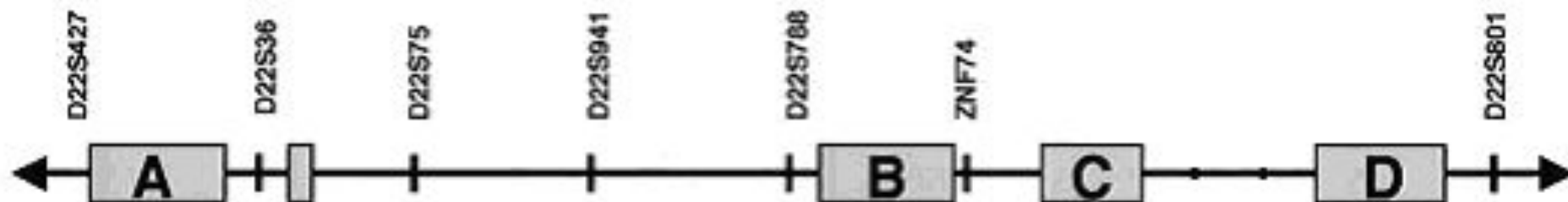
Частота микроделеции 1 на 4000 живых новорожденных в популяции.



Расположение кластеров низкокопийных повторов в критическом районе 22q11.2

Центромера

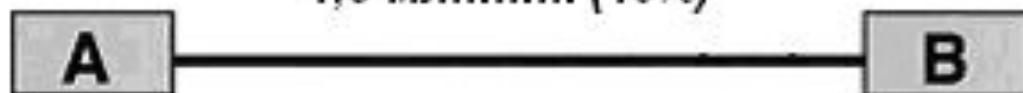
теломера



стандартная делеция 3млн.п.н. (80-90%)



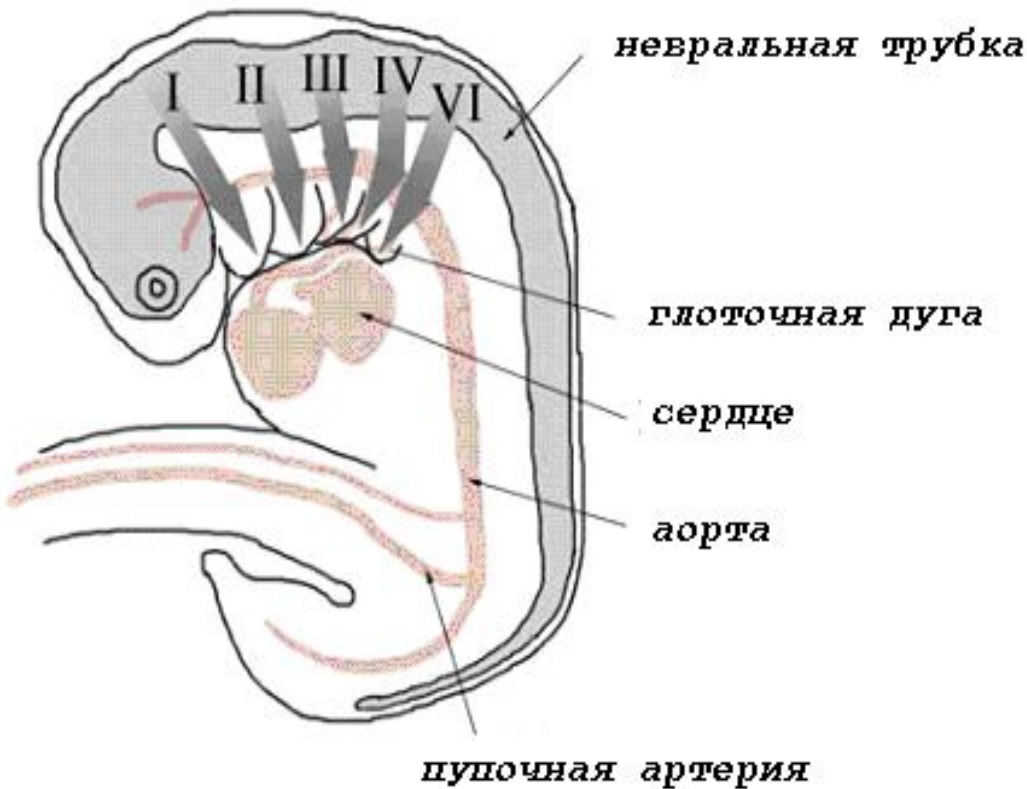
1,5 млн.п.н. (10%)



делеция нестандартного размера



Миграция клеток из нервной трубки в пять глочечных дуг

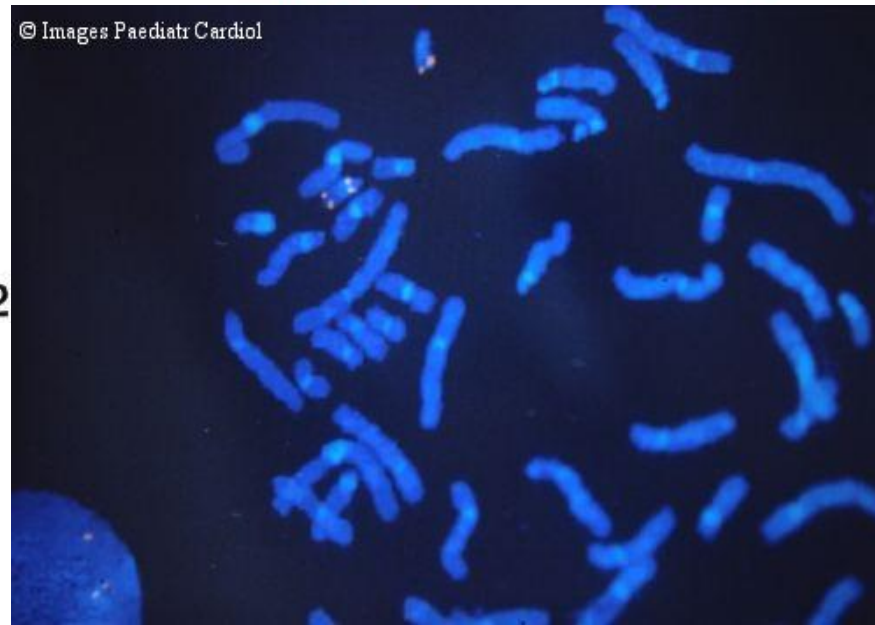
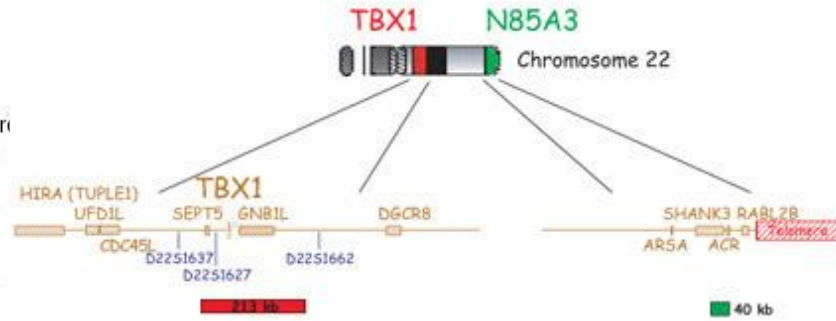
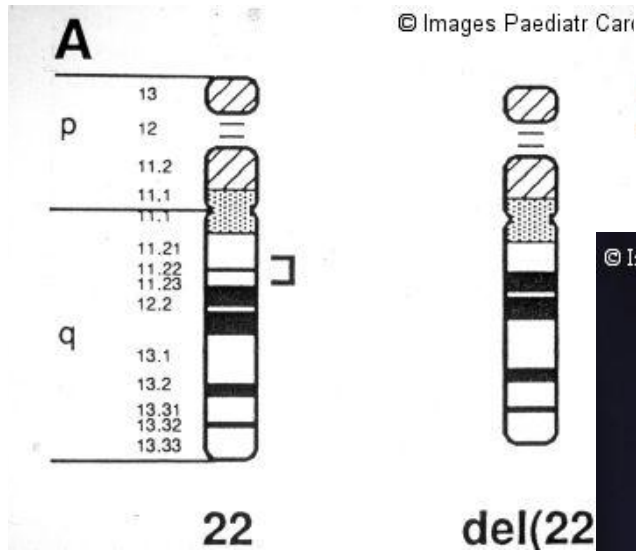
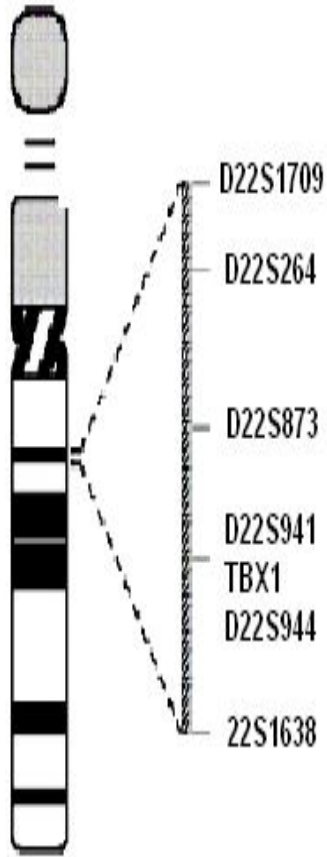


Клетки нервного гребня мигрируют из района невральнoй трубки для формирования глоточной дуги и ее производных. Эмбрион позвоночных имеет пять пар глоточных дуг, из первых двух пар происходят кости, мышцы и нервы лица, уха, челюсти и верхнего отдела шеи. Последние три пары отвечают за происхождение костей, мышц шеи, эндокринных желез (тимуса и щитовидной железы), а также выносящих магистральных сосудов сердца – аорты и легочной артерии.

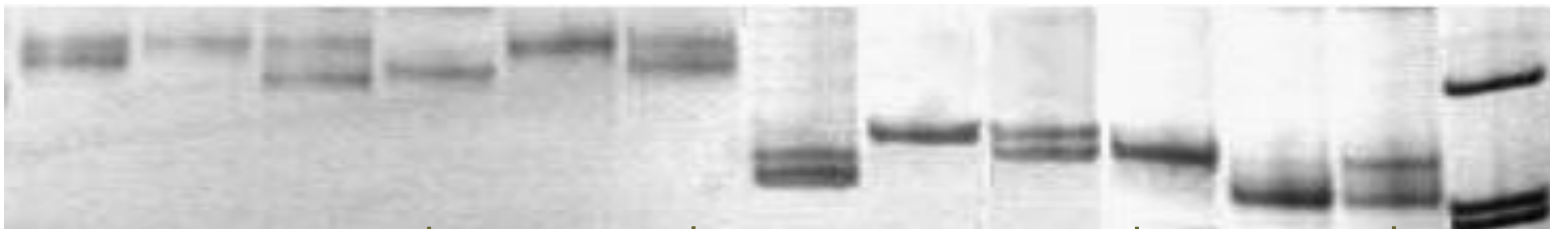
Дефект клеток нервного гребня отвечает за развитие характерной клиники синдрома ВКФС/ДиДжорджи.

Эксперименты на мышинных моделях подтвердили значение гена *tbx1* для развития клиники ВКФС/ДиДжорджи синдрома. Ген имеет 9 экзонов, подвергается альтернативному сплайсингу, с образованием трех сплайс-форм (*TBX1A*, *TBX1B* и *TBX1C*). Все три формы с 1 по 8 экзон высоко-консервативны, и различаются только терминальными экзонами. Значение гена для клинической картины заболевания подтверждено наличием точковых мутаций у пациентов с клиническими проявлениями ВКФС/ДиДжорджи, но без хромосомной патологии. В настоящее время известны около десятка мутаций в гене *TBX1*, которые приводят к развитию заболевания у пациентов, при этом клинические проявления заболевания у таких больных имеют нетяжелую, частичную форму, при которой обязательно сохраняются дефекты развития сердца и сосудов.

Диагностика вело-кардио-фациального синдрома



♂ пр ♀ ♂ пр ♀ ♂ пр ♀ ♂ пр ♀ M



D22S264

D22S264

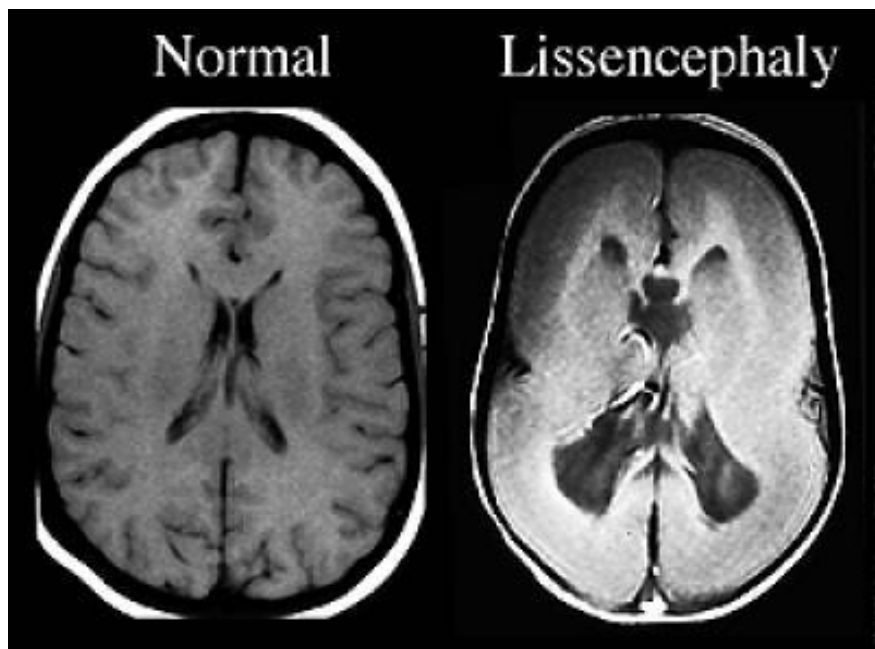
D22S1638

D22S1638

Синдром Миллера-Дикера (ОМІМ 247200)

Клинические признаки синдрома Миллера-Дикера

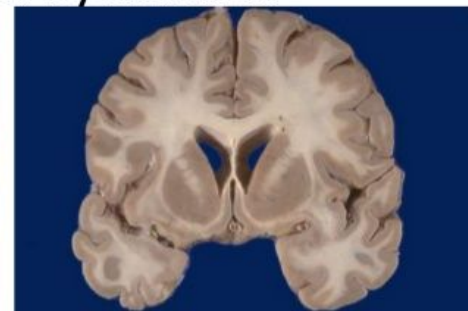
- **микроцефалия** и тяжелые нарушения развития головного мозга по типу **лиссэнцефалии**, к которым относится отсутствие борозд и извилин мозга (**агирия**) или уменьшение их количества (**пахигирия**)
- уменьшение толщины коркового слоя головного мозга в результате недоразвития серого вещества.



Miller-Dieker syndrome



Ellison & Love: Neuropathology 2e © 2004 Elsevier Ltd.



Normal



Reversal of the gray-white matter ratio
Large ventricles
Subependymal heterotopic nodules

- **ТИПИЧНЫЙ ВНЕШНИЙ ВИД:** высокий лоб, суженый в височных областях, выступающий затылок, развернутые назад ушные раковины, антимонголоидный разрез глаз. В некоторых случаях описаны мышечная гипотония и врожденные пороки сердца.



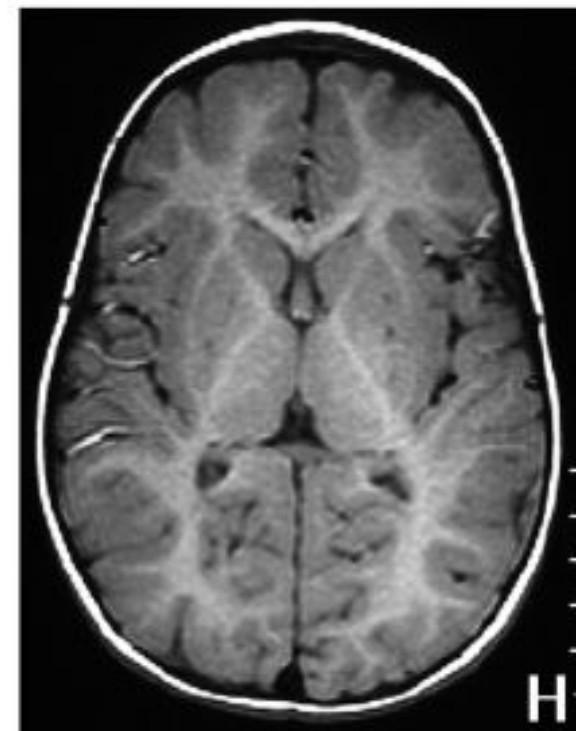
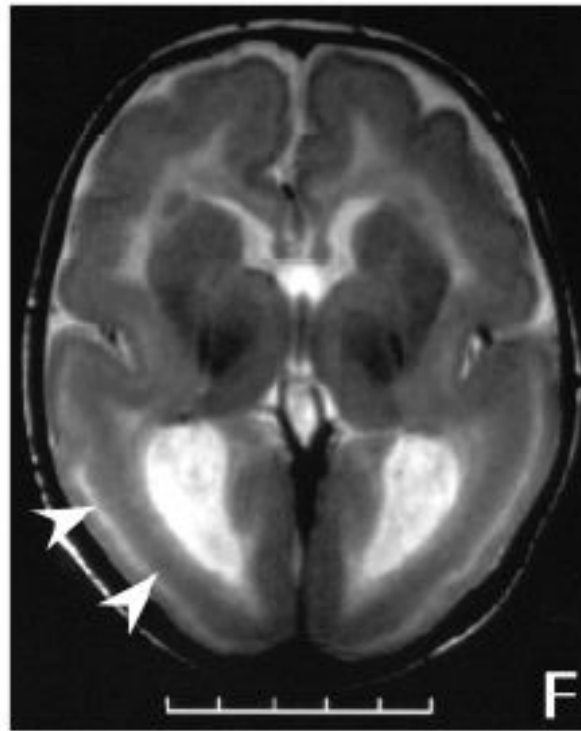
Причиной **лиссэнцефалии** является нарушение миграции постмитотических нейронов из вентрикулярной зоны в кортикальную пластину во время эмбриогенеза. В результате происходит образование тонкого кортикального слоя, отсутствие или редукция борозд и извилин - агирия и пахигирия. Лиссэнцефалия является диагностическим признаком синдрома Миллера-Дикера, но может выступать и как изолированная форма.

В критическом районе 17p13.3 картирован и клонирован **ген LIS1**. Если ген **LIS1** теряется в результате протяженной делеции в локусе 17p13.3, то развивается **синдром Миллера-Дикера** с более тяжелым фенотипом и клиническим течением, если же повреждение затрагивает только район локализации гена, то определяется клинически менее тяжелая изолированная лиссэнцефалия.

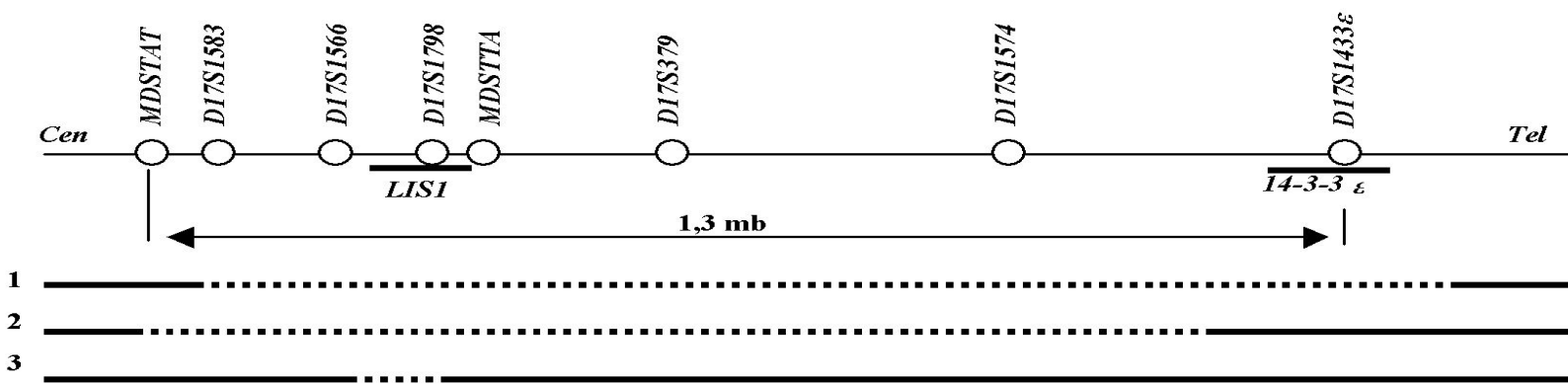
Del(LIS1,14-3-3ε)

Del LIS1

Нормальный контроль



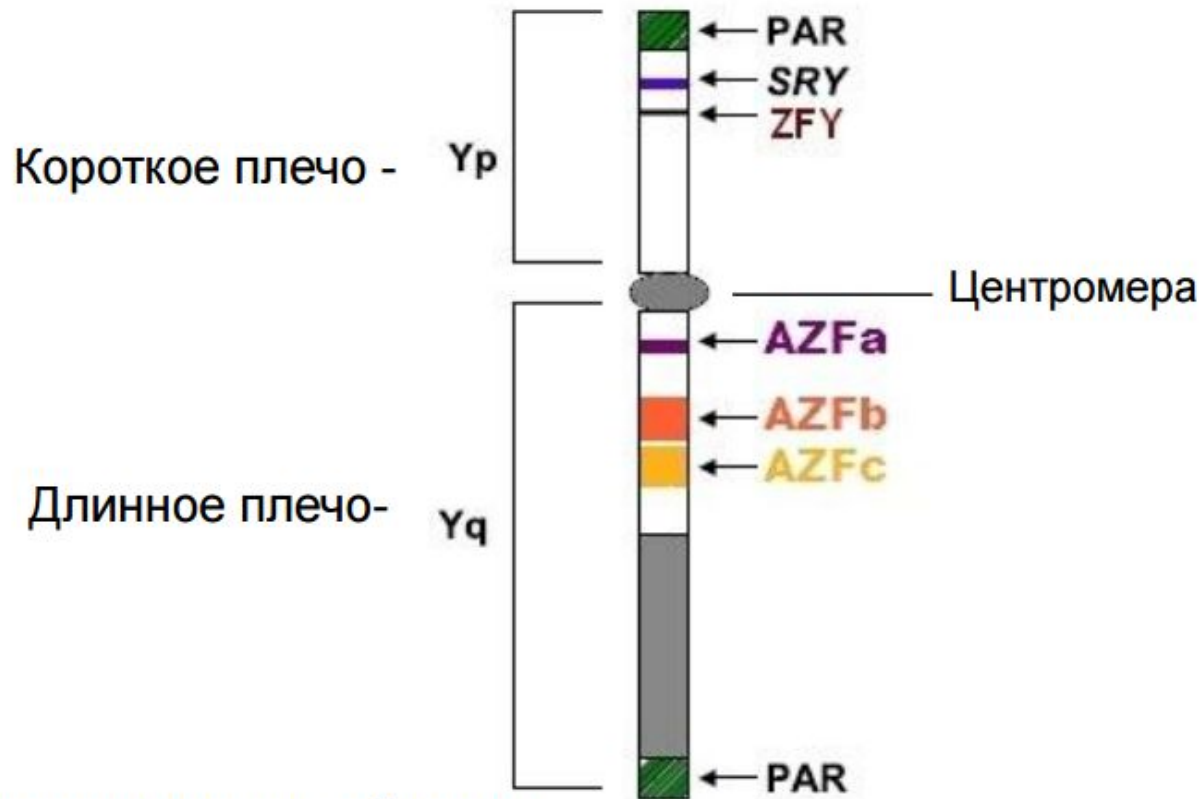
Молекулярная характеристика критического района при синдроме Миллера-Дикера



Ген *LIS1*, локализованный в критическом районе, отвечает за нейрональную миграцию в эмбриогенезе, кодирует не каталитическую альфа-субъединицу внутриклеточной 1b изоформы ацетилгидролазы тромбоцит-активирующего фактора.

Ген содержит 11 экзонов и кодирует транскрипт 1,2 kb. Белок LIS1 экспрессируется в мозге, как в фетальном периоде, так и во взрослом состоянии. Основной из его функций является взаимодействие с тубулином для подавления образования микротрубочек, образующих веретено деления. Этот высоко консервативный белок принимает участие в процессе митоза и хромосомной сегрегации. На сегодняшний день известно, что 65% пациентов с изолированной лиссэнцефалией имеют точковые мутации или внутригенные делеции гена *LIS1*. Миссенс и нонсенс мутации, а также микроделеции равномерно распределяются по всему гену.

Строение Y- хромосомы



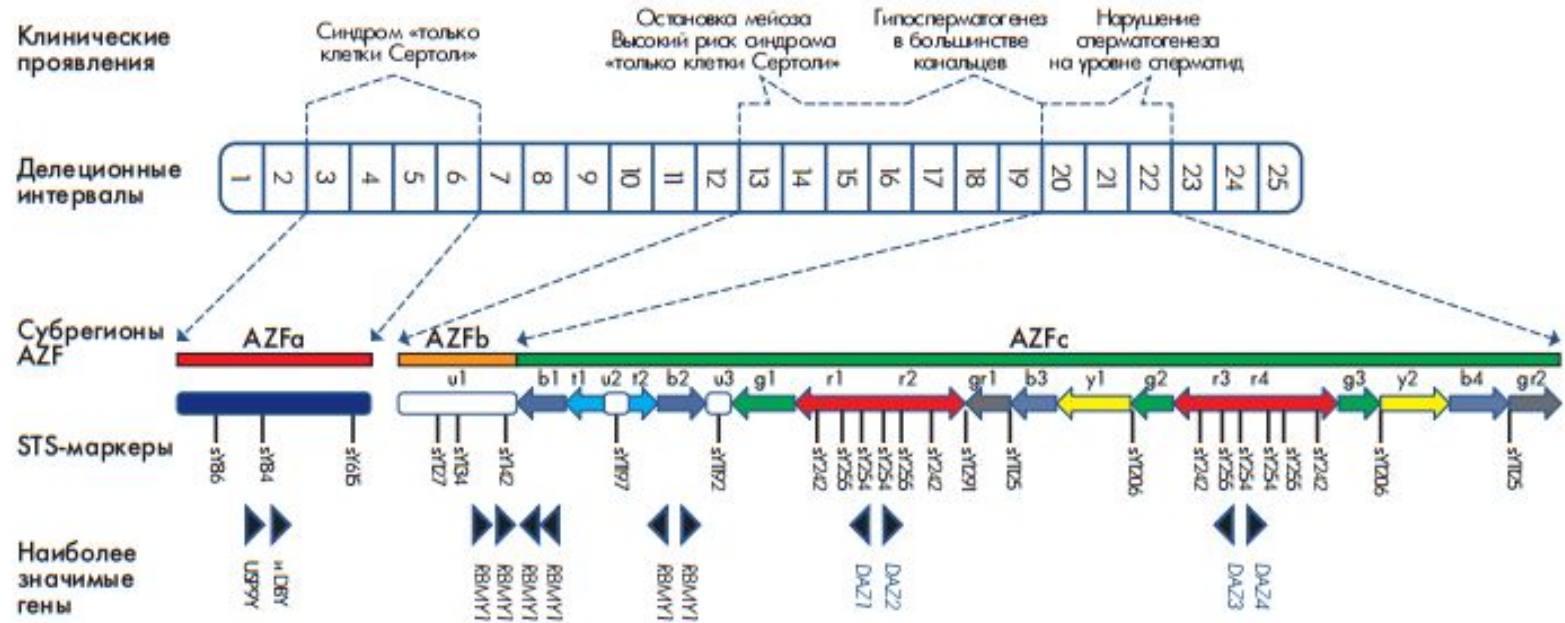
PAR – псевдоаутосомные области

AZF – **AZ**oospermia **F**actor, участок, ассоциированный с азооспермией

SRY (Sex-determining Region Y) – ген, определяющий дифференцировку гонад по мужскому типу

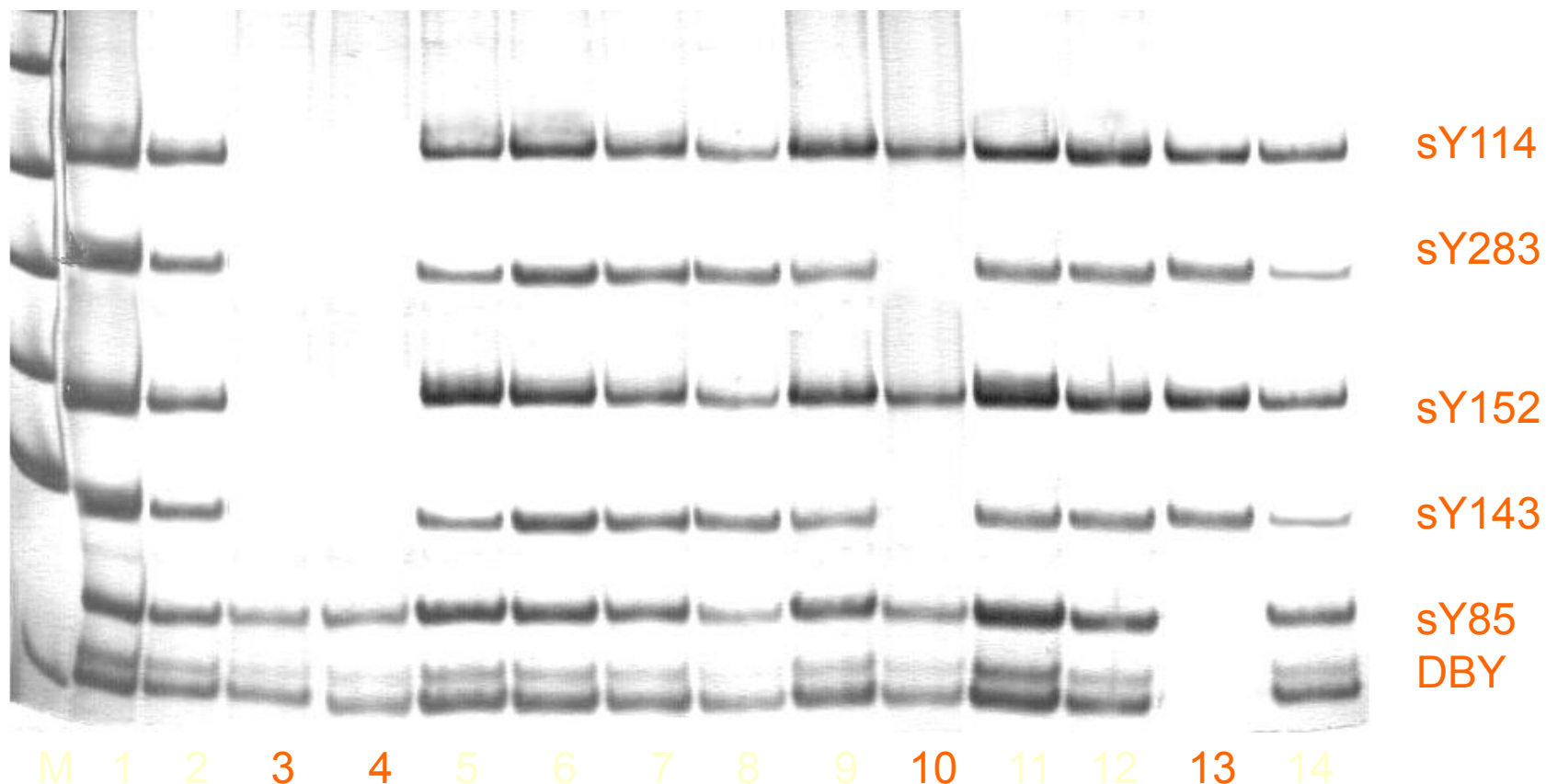
Исследование микроделеций локуса AZF на Y-хромосоме

Рис. 4. Схематическое изображение региона AZF



- 1) делеции Y-хромосомы не встречаются у мужчин с нормоспермией, поэтому очевидным является ее негативное влияние на сперматогенез
- 2) делеции Y-хромосомы наиболее часто встречаются у мужчин с азооспермией (8–12%), далее у мужчин с олигозооспермией (7%);
- 3) делеции крайне редко обнаруживаются у мужчин с концентрацией сперматозоидов > 5 млн/мл (около 0,7%);
- 4) делеции наиболее часто возникают в субрегионе AZFc (приблизительно 65–70%), далее – в субрегионах AZFb и AZFb+c или AZFa+b+c (25–30%), в то время как делеции в субрегионе AZFa встречаются значительно реже (5%);
- 5) полная делеция субрегионов AZFa и AZFb связана с тяжелым тестикулярным фенотипом, синдромом клеток Сертоли и сперматогенным блоком соответственно. Полная делеция субрегиона AZFc приводит к различному фенотипу, от азооспермии до олигозооспермии;
- 6) классическая делеция AZF не связана с повышенным риском крипторхизма или рака яичка

ПЦР-анализ участков Y-хромосомы (области AZFa, b, c)(области AZFa, b, c)



M-маркер; пробы 1, 2, 5-9, 11, 12, 14 – норма;
3, 4 – del AZFb-c; 10 - del AZFc; 13 – del AZF a

Критерии отбора пациентов для проведения микроделеционного анализа Y-хромосомы

При использовании ИКСИ у мужчин с ОА нет необходимости в проведении скрининга для выявления микроделеции, так как сперматогенез не должен быть нарушен.

Для пациентов с тяжелыми нарушениями сперматогенеза (концентрация сперматозоидов < 5 млн/эякулят) рекомендуется выполнять скрининг для выявления микроделеции Yq и в диагностических, и в лечебных целях. Более того, это имеет важное значение для генетического консультирования (см. ниже).

Если микроделеции AZFa или AZFb Y-хромосомы обнаружены, не следует выполнять процедуры по выделению сперматозоидов, так как шанс их обнаружения чрезвычайно низок. Доказано, что gr/gr-делеции являются значительным фактором риска нарушения сперматогенеза, однако требуются дальнейшие доказательства прогностической значимости gr/gr в развитии герминогенных опухолей яичка.

Если мужчина с микроделециями Y-хромосомы и его партнерша хотят воспользоваться ИКСИ, их следует осведомить о том, что микроделеции наследуются сыновьями, но не дочерьми.

У сына, который наследует микроделецию Y-хромосомы от отца, будут нарушения фертильности, так как полная делеция AZF не встречается у мужчин с нормозооспермией.

1. Генетическая рекомбинация – это:

- А) процесс удвоения хромосом
- Б) процесс реорганизации генетического материала посредством обмена участками ДНК
- В) процесс синтеза молекулы м-РНК на матрице ДНК
- Г) процесс регуляции экспрессии генов

2. Биологическая суть рекомбинации

- А) обеспечить равное распределение наследственной информации между дочерними клетками
- Б) участвовать в репарации двунитевых разрывов ДНК
- В) обеспечить генетическое разнообразие и уникальность живых организмов
- Г) обеспечение разнообразия белков

3. К основным функциям гомологичной рекомбинации относится :

- А) Трансляция ДНК
- Б) Репликация ДНК
- В) Обмен генетической информацией между гомологичными хромосомами
- Г) Репарация ДНК

4. Субстратом для неаллельной гомологичной рекомбинации служат:

- А) альфа-сателлитные повторы
- Б) рассеянные Alu- повторы
- В) уникальные последовательности
- Г) кластеры низокопийных повторов с высокой гомологией

5. Причиной развития микроделеционных синдромов является

- А) делеция ДНК в 50 нуклеотидов
- Б) делеция большого количества генов
- В) мутация в гене
- Г) Мутация в гене фенилаланингидроксилазы

6. К микроделеционным синдромам относится:

- А) муковисцидоз
- Б) фенилкетонурия
- В) синдром Вильямса
- Г) синдром Дауна

7. Микроделеционные синдромы можно выявить:

- А) методом ПЦР
- Б) гибридизацией in situ
- В) используя микросателлитный анализ
- Г) методами выявления точковых мутаций

8. Какой ген является главным для синдрома Ди-Джорджи:

- А) ELN
- Б) TBX1
- В) LIS1
- Г) CFTR

9. Какой ген является главным для синдрома Миллера-Диккера

- А) ELN
- Б) TBX1
- В) LIS1
- Г) CFTR

10. Лиссэнцефалия возникает вследствие:

- А) нарушения водно-солевого баланса
- Б) нарушения миграции постмитотических нейронов из вентрикулярной зоны в кортикальную пластину во время эмбриогенеза
- В) нарушения синтеза тирозина
- Г) нарушения миграции клеток из района невральнй трубки для формирования глоточных дуг в эмбриогенезе