

УДК: 616.155.16

## АНАЛИЗ НАСЛЕДСТВЕННЫХ НАРУШЕНИЙ СИСТЕМЫ КРОВИ В ТРЕХ ЗОНАХ АЗЕРБАЙДЖАНА

Акперова Г.А.

*Бакинский Государственный Университет, Баку, Азербайджан*

Подробная информация об авторах размещена на сайте

«Учёные России» - <http://www.famous-scientists.ru>

**Проведен анализ наследственных нарушений системы крови среди популяции Муганской, Ширванской и Западной зон Азербайджана. Идентифицировано 65 дефектных  $\beta$ -глобиновых гена, пять типов мутаций и три генотипа по  $\beta$ -талассемии. Установлено два фенотипа по дефициту фермента глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы у новорожденных с гемолитической болезнью. Зафиксированы случаи заболевания гемофилией.**

Среди генетически обусловленных заболеваний системы крови важное место по значимости и распространенности занимают наследственные энзимопатии эритроцитов, вызванные дефицитом фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФД), который особенно характерен для стран Средиземноморья, некоторых стран Латинской Америки и Африки [13]. По сведениям ВОЗ, в мире, в том числе в СНГ, насчитывается около 100 млн. человек с недостаточностью Г6ФД [3; 4]. Ввиду расширения спектра производства и потребления в эндемичных регионах лекарственных препаратов окислительного действия и возникновения желтухи у больных новорожденных, неонатальные скрининг-программы по дефициту Г6ФД являются обязательными [9]. Наиболее распространенными моногенными расстройствами гемоглобиновой системы во всем мире являются талассемии, среди которых  $\beta$ -талассемия составляет более 90% всех типов заболевания и эндемично для популяций Средиземноморского бассейна, Ближнего Востока, Азии и Африки. Распространяющаяся глобальная миграция привела к проникновению этого заболевания в США и северо-запад Европы, в виду чего скрининг на носительство  $\beta$ -талассемии входит в список обязательных профилактических программ во многих странах [7; 10; 11; 12]. Наиболее часто встречающимся наследственным геморрагическим диатезом коагуляционного генеза является гемофилия с частотой от 6,6 до 18 на 100.000 жителей мужского пола [1]. В виду того, что учи-

тывается лишь обращаемость во время кровотечений, численность больных гемофилией в действительности оказывается гораздо больше [6]. Отмечая особую роль указанных заболеваний в инвалидизации детей, в том числе и в Азербайджане, результатом чего является длительное, сложное и дорогое лечение, нами проведены популяционно-генетические исследования среди населения Муганской, Ширванской и Западной зон Азербайджана с целью идентификации лиц, отягощенных энзимопенической анемией,  $\beta$ -талассемией и гемофилией, определения частоты распространения и типов мутаций заболеваний, что необходимо для дальнейшего проведения пренатальной диагностики в семьях с риском рождения больного ребенка и составления регистра по данным патологиям.

### Материалы и методы

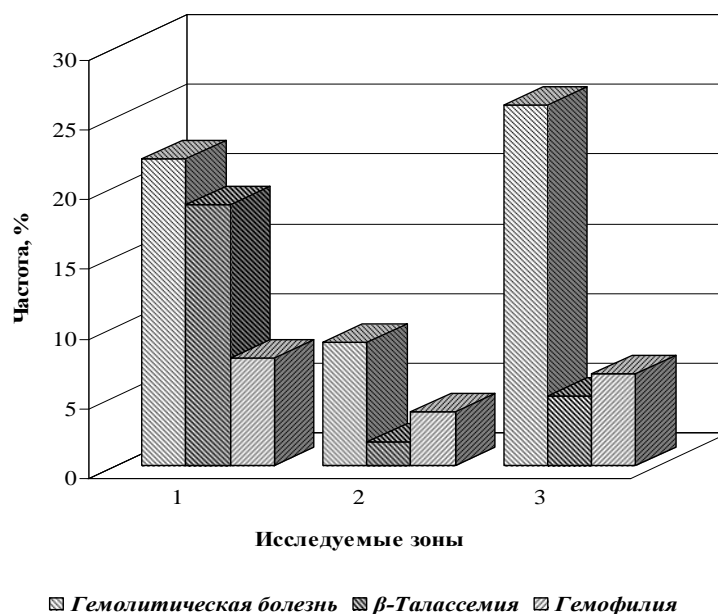
Материал собран в экспедиционных условиях в селах и в районных центрах Муганской, Ширванской и Западной зон Азербайджана в период с 2004 по 2007 гг. Для выявления больных с наследственной патологией крови использованы списки ВТЭК ЦРБ. В селах при подворовом обходе семей пробандов составлены родословные и путем генеалогического анализа дифференцированы случаи наследственных нарушений крови. В качестве материала для анализов использованы образцы крови, забор которой производили в микропробирки с антикоагулянтом. С помощью скрининг-программ выявлены случаи  $\beta$ -талассемии и недостаточности фермента

Г6ФД среди учащихся 5-11-х классов [14]. В качестве экспресс-диагностики дефицита Г6ФД использован метод флюоресцирующих пятен Beutler E. (аппарат Hoefer MacroVue UV-25, Amersham Bioscience, USA) [2]. Для идентификации типа мутации  $\beta$ -талассемии на аппарате Thermal cycler Biocycler TC-S (Roche, USA) использован молекулярный метод высокотемпературной аллель-специфической амплификации, основанный по принципу метода полимеразно-цепной реакции [8; 17]. С целью тестирования изменений различных регионов  $\beta$ -глобинового гена ( $\beta$ -ГГ) использованы синтетические олигонуклеотидные контрольные праймеры - №№ 15, 16, 30, 31, и праймеры конкретных мутаций - 40 IVS-1-110 M (G-A), 41 IVS-1-110 N, 49 IVS-2-1 M (G-A), 77 IVS-2-1 N, 46 IVS-1-6 M (T-S), 54 Codon 8 M (-AA), 55

Codon 8 N. Для уточнения клинического диагноза больных наследственными гемоглобинопатиями использованы метод электрофореза гемоглобина на ацетат-целлюлозных пленках (аппарат EPS3501XL, USA) и аналитический метод изоэлектрофокусирования гемоглобинов в полиакриламидно-амфолиновых пластинках с pH 3,5-9,5 (аппарат Multiphor II, USA) [15; 16]. Частоты определены по общепринятой методике [5].

#### Результаты и обсуждение

В ходе проведенных исследований в 9-ти крупных районах трех зон Азербайджана выявлено 182 больных, среди которых у 103 детей установлена гемолитическая болезнь новорожденных (ГБН) – 56,60%, у 46 больных -  $\beta$ -талассемия с частотой 25,27%, у 33 больных - гемофилия с частотой 18,13% (рис.1).



**Рис.1.** Наследственные болезни крови в трех зонах Азербайджана  
1. Муганская зона; 2. Ширванская зона; 3. Западная зона

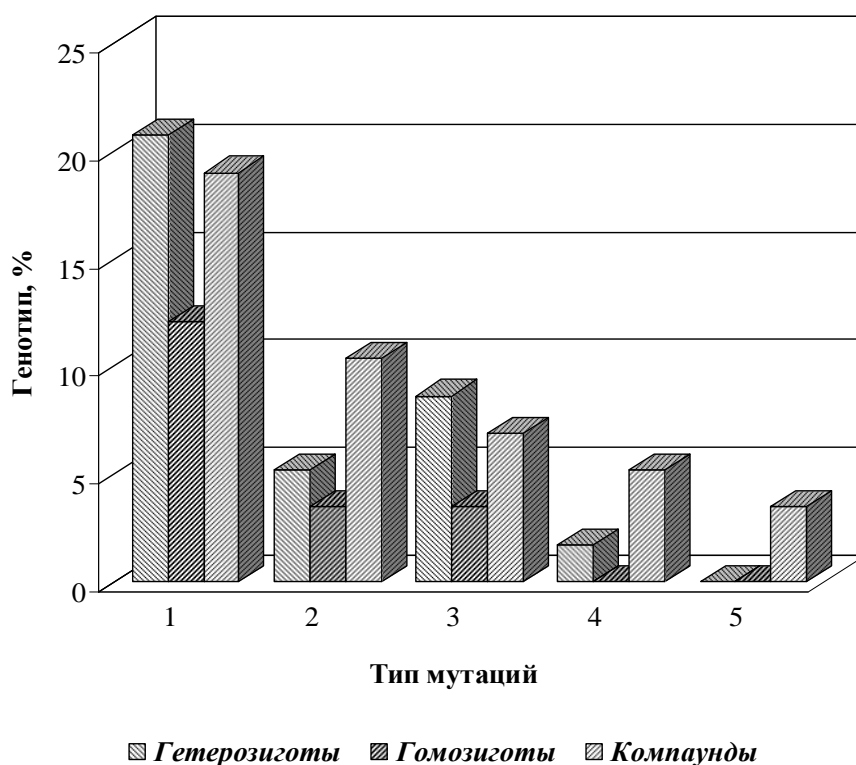
В данных популяциях идентифицировано 65 дефектных  $\beta$ -ГГ и пять типов мутаций  $\beta$ -талассемии: замена гуанина на аденин в 110-ой позиции I интрона  $\beta$ -ГГ с фенотипом  $\beta^+$ -IVS-1-110(G-A); делеция двух нуклеотидов аденин в 8-ом кодоне I экзона  $\beta$ -ГГ –  $\beta^0$ -codon 8(-AA); замена гуанина на аденин в 1-й позиции II интрона  $\beta$ -ГГ с фенотипом  $\beta^0$ -талассемии –  $\beta^0$ -IVS-2-

1(G-A); замена гуанина на цитозин в 5-й позиции I интрона  $\beta$ -ГГ –  $\beta^+$ -IVS-1-5(G-S); замена тимина на цитозин в 6-й позиции I интрона  $\beta$ -ГГ –  $\beta^+$ -IVS-1-6(T-S). Результатом IVS-1-110(G-A), IVS-2-1(G-A), IVS-1-6(T-S), IVS-1-5(G-S) дефектов является нарушение этапа сплайсинга биосинтеза, результатом микроделеции codon 8(-AA) – нонсенс-мутация, нарушающая транскрипцию (табл. 1).

**Таблица 1.** Частота мутаций  $\beta$ -глобинового гена в трех зонах республики

Тип мутаций	Частота генов, %		
	Зоны		
	Муганская	Ширванская	Западная
$\beta^+$ -IVS-1-110(G-A)	30,77	6,15	13,85
$\beta^0$ -codon8(-AA)	16,92	3,08	-
$\beta^0$ - IVS-2-1(G-A)	13,85	-	6,15
$\beta^+$ -IVS-1-5(G-S)	6,15	-	-
$\beta^+$ -IVS-1-6(T-S)	3,08	-	-

Среди талассемиков у 22-х установлены гетерозиготный, 11-ти – гомозиготный, 13-ти компаундный генотипы (рис. 2).



**Рис. 2.** Участие  $\beta$ -ГГ в формировании генотипов по  $\beta$ -талассемии  
1. IVS-1-110(G-A); 2. Codon 8(-AA); 3. IVS-2-1(G-A); 4. IVS-1-5(G-S); 5. IVS-1-6(T-S)

Анализ определения активности фермента Г6ФД, проведенный в Муганской зоне среди 40 новорожденных с диагнозом ГБН, позволил установить гемизиготный генотип у 34 больных мальчиков, 22 из которых имели полный дефицит фермента с фенотипом Г6ФД «0», остальные – частичную недостаточность с фенотипом Г6ФД «+». У больных девочек установлен гетерозиготный генотип по исследуемому заболеванию. Идентифицировано 34 больных с диагнозом  $\beta$ -талассемия, среди которых у 17 установ-

лен гетерозиготный генотип по  $\beta^+$ -IVS-1-110(G-A),  $\beta^0$ -codon8(-AA),  $\beta^0$ -IVS-2-1(G-A) и  $\beta^+$ -IVS-1-5(G-S) мутациям, у 8-ми – гомозиготный – по  $\beta^+$ -IVS-1-110(G-A),  $\beta^0$ -codon8(-AA) и  $\beta^0$ -IVS-2-1(G-A) мутациям, у 9-ти – компаундность с участием всех пяти типов мутаций  $\beta$ -ГГ. Согласно спискам ВТЭК ЦРБ в данной популяции зарегистрировано 14 мальчиков с диагнозом гемофилия. В Ширванской зоне у 16 новорожденных с диагнозом ГБН, как у мальчиков, так и у девочек установлен полный и частичный дефицит фермента Г6ФД. В

ходе исследований выявлено двое компаундов с фенотипами  $\beta^+$ -IVS-1-110(G-A)/ $\beta^0$ -codon 8(-AA) и один гомозиготный больной -  $\beta^+$ -IVS-1-110(G-A)/ $\beta^+$ -IVS-1-110(G-A). Установлено 7 мальчиков с гемофилией. В Западной зоне среди 47 детей с ГБН у 25 новорожденных, а именно у 20 мальчиков идентифицирован гемизиготный генотип и нулевая и частичная активность энзима. Обследованные девочки - гетерозиготы по данному заболеванию. Идентифицировано 9 больных с  $\beta$ -талассемией, среди которых пятеро являлись гетерозиготами по  $\beta^+$ -IVS-1-110(G-A) и  $\beta^0$ -IVS-2-1(G-A) мутациям, двое – гомозиготами -  $\beta^+$ -IVS-1-110(G-A)/ $\beta^+$ -IVS-1-110(G-A), двое – компаундами -  $\beta^+$ -IVS-1-110(G-A)/ $\beta^0$ -IVS-2-1(G-A). По спискам ВТЭК ЦРБ среди популяции Западной зоны зарегистрировано 12 мальчиков с гемофилией.

В ходе проведенной работы в трех крупных зонах республики установлено пять типов компаундов со следующими фенотипами:  $\beta^+$ -IVS-1-110(G-A)/ $\beta^0$ -IVS-2-1(G-A) – четверо больных из Муганской и Западной зон,  $\beta^+$ -IVS-1-6(T-S)/ $\beta^0$ -codon 8(-AA),  $\beta^+$ -IVS-1-5(G-S)/ $\beta^+$ -IVS-1-6(T-S) и  $\beta^+$ -IVS-1-5(G-S)/ $\beta^+$ -IVS-1-110(G-A) – четверо больных из Муганской зоны,  $\beta^+$ -IVS-1-110(G-A)/ $\beta^0$ -codon 8(-AA) – пять больных из Муганской и Ширванской зон.

Таким образом, проведенные исследования позволили установить высокую частоту распространения  $\beta$ -талассемии, связанной с частичным и полным отсутствием экспрессии  $\beta$ -ГГ, и идентифицировать два фенотипа по дефициту фермента ГбФД у новорожденных с гемолитической болезнью в популяции Муганской, Ширванской и Западной зон Азербайджана. Значимость настоящего исследования заключается в изучении молекулярно-генетической характеристики распределения патологических генов недостаточности ГбФД, гемофилии и  $\beta$ -талассемии среди обследованного населения для разработки программ генетического скрининга беременных и новорожденных с целью выявления брачных пар с риском рождения больных детей, а также новорожденных с различными формами и сочетаниями гемоглобинопатий, что позволяет оказать

своевременное лечение и ретроспективно выявлять семьи, имеющие риск повторного рождения подобных детей.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Альпидовский В.К. Курс гематологии кафедры госпитальной терапии: Учебное пособие. М.: Изд-во РУДН, 2002. Режим доступа: <http://med.pfu.edu.ru/new/russian/win/librar/y/gematologia/nasl.htm>
2. Бойтлер Э. Нарушения метаболизма эритроцитов и гемолитическая анемия: Пер. с англ. – М.: Медицина. 1981. 256 с.
3. Бочков Н.П. Клиническая генетика: Учебник. М.: ГЭОТАР-МЕДИА. 2006. 480 с.
4. Краснопольская К. Д. Наследственные болезни обмена веществ: справочное пособие для врачей/ М.: Фохат. 2005. 364 с.
5. Ли Ч. Введение в популяционную генетику. М.: Мир. 1978. 546 с.
6. Плахута Т., Якунина Л. Гемофилия у детей. Газ. «Медицинская газета», 2003, август, №62.
7. Талассемия и другие гемоглобинопатии. Доклад Секретариата. Всемирная Организация Здравоохранения, Женева. EB 118/5, пункт 5.2; 4.05.2006 г.
8. Шостакович-Корецкая Л.Р., Маврутенков В.В., Братусь Е.В. и др. Полимерно-цепная реакция: принципы и практические рекомендации по использованию в клинической практике врача (руководство для врачей). Днепропетровск: МЗ Украины. 2002. 26 с.
9. Beutler E. G-6-PD: Population genetics and clinical manifestations // Blood Reviews. 1996. 10: 45-52.
10. Cao A. A world-wide evaluation of one on going research and future directions toward preventing thalassemia and sickle cell disease / 2<sup>nd</sup> International Thalassemia Summer School. 01-05 April 2002, Kurenia/North Cyprus. P. 7-8.
11. El-Beshlawy A., Kaddah N., Moustafa A. et al. Screening for  $\beta$ -thalassaemia carriers in Egypt: significance of the osmotic fragility test // Eastern Mediterranean Health Journal. 2007. Vol. 13. No. 4. P. 780-786.

12. Leung T.N., Lau T.K., Chung T.Kh. Thalassaemia screening in pregnancy // *Current opinion in obstetrics & gynecology*. 2005. P.129-134.
13. Medina M. D., Vaca G., Lopez-Guido B. et al. Molecular Genetics of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency in Mexico // *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 1997. 23(5) Mar 15. P. 88-94.
14. Modell B. The ethics of prenatal diagnosis and genetic counseling // *World Health Forum*. 1990. 11. P. 179.
15. Morengo-Rowe A.J. Rapid electroforesis on cellulose acetate. // *J. Clin. Pathology*. 1965. 18. P. 790.
16. Rasulov E. Express-methods of hemoglobinopathy dignosis in newborns // *Journal of molecular genetics, microbiology, virusology*. 1990. 1. P. 27.
17. Saiki R. K., Scharf S., Faloona F. et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. // *Science*. 1985. 230. P. 1350.

**THE ANALYSIS OF HEREDITARY INFRINGEMENTS OF SYSTEM OF BLOOD IN  
THREE REGIONS OF AZERBAIJAN**

Akperova G.A.

*The Baku State University, Baku, Azerbaijan*

The analysis of hereditary infringements of blood among population Mugan, Shirvan and Western regions of Azerbaijan is carried out. The 65 defective of  $\beta$ -globins genes, five types of mutations and three genotypes on  $\beta$ -thalassaemia is identified. Two phenotypes on deficiency of enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase at newborns with haemolytic anaemia are established. Cases of disease by hemophilia are fixed.