

ОГЛАВЛЕНИЕ

Участники издания	7
Предисловие	13
Список сокращений и условных обозначений	14
Введение. Офтальмологическая заболеваемость в Российской Федерации. <i>В.В. Нероев, Л.А. Михайлова</i>	17
Раздел I. Методы диагностики	23
Глава 1. Определение остроты зрения. <i>В.Н. Алексеев, И.Р. Газизова</i>	25
Глава 2. Осмотр органа зрения. <i>В.Н. Алексеев, И.Р. Газизова</i>	28
2.1. Наружный осмотр органа зрения.....	28
2.2. Исследование переднего отдела глаза	32
Глава 3. Биомикроскопия. <i>В.Н. Алексеев, И.Р. Газизова</i>	37
3.1. Общая биомикроскопия.....	37
3.2. Частная биомикроскопия.....	40
Глава 4. Гониоскопия. <i>Ю.С. Астахов, Е.Л. Акопов</i>	48
Глава 5. Исследование внутриглазного давления и гидродинамики глаза. <i>Е.А. Егоров</i>	55
Глава 6. Оценка чувствительности роговицы. <i>В.Н. Алексеев, И.Р. Газизова</i>	59
Глава 7. Конфокальная прижизненная микроскопия роговицы. <i>С.Э. Аветисов, Г.Б. Егорова</i>	60
Глава 8. Исследование слезопродукции и слезоотведения. <i>В.В. Бржеский, Г.Б. Егорова</i>	66
8.1. Методы исследования слезопродукции	66
8.2. Методы исследования слезоотведения	71
Глава 9. Офтальмоскопия. <i>Е.А. Егоров, М.Г. Рабаданова</i>	78
Глава 10. Исследование центрального и периферического полей зрения. <i>Е.А. Егоров, Т.Б. Романова, А.Н. Куликов, И.Л. Симакова</i>	88
Глава 11. Цветовое зрение. <i>В.В. Нероев, М.В. Зуева</i>	105
Глава 12. Оценка бинокулярного зрения. <i>В.В. Нероев, Е.П. Тарутта,</i> <i>Н.А. Аклаева</i>	112
Глава 13. Методы исследования кровообращения глаза. <i>Ю.С. Астахов, В.В. Потемкин</i>	117
Глава 14. Ультразвуковые методы исследования глаза и тканей орбиты. <i>Х.П. Тахгиди</i>	128
Глава 15. Флюоресцентная ангиография глазного дна. <i>В.В. Нероев, М.В. Рябина</i>	144
Глава 16. Оптическая когерентная томография глаза. <i>А.Г. Шуко, С.И. Жукова, Т.Н. Юрьева</i>	150
Глава 17. Электрофизиологические методы исследования. <i>В.В. Нероев, М.В. Зуева</i>	188
17.1. Электроретинография	188
17.2. Электроокулография	212
Раздел II. Методы лечения	215
Глава 18. Физиотерапевтические методы. <i>С.Э. Аветисов, В.М. Шелудженко, Т.Г. Каменских</i>	217
18.1. Электролечение	217
18.2. Механолечение.....	228
18.3. Оксигенотерапия, озонотерапия	230

Глава 19. Офтальмофармакология. <i>Е.А. Егоров, Ж.Г. Оганезова</i>	232
19.1. Противомикробные средства	232
19.2. Противовоспалительные лекарственные средства	250
19.3. Препараты, применяемые для лечения глаукомы.....	256
19.4. Мидриатики и циклоплегики	268
19.5. Лекарственная терапия аллергических заболеваний глаз.....	272
19.6. Местные анестетики	277
19.7. Диагностические препараты.....	279
19.8. Препараты, используемые в ходе хирургических офтальмологических вмешательств.....	280
19.9. Фибринолитические средства	289
19.10. Прочие средства для лечения заболеваний глаз.....	291

Раздел III. Клинические рекомендации по заболеваниям

и состояниям	299
---------------------------	-----

Глава 20. Молекулярная генетика глазных заболеваний и эмбриология. <i>Ю.С. Астахов, В.В. Рахманов</i>	301
Глава 21. Рефракция глаза и ее нарушения. <i>С.Э. Аветисов, В.М. Шелудженко, В.В. Авериз</i>	315
21.1. Физическая рефракция глаза	316
21.2. Клиническая рефракция глаза	316
21.3. Методы исследования клинической рефракции и аккомодации	325
21.4. Современные принципы коррекции рефракционных нарушений	333
Глава 22. Заболевания век.....	349
22.1. Врожденные и приобретенные аномалии развития и положения век. <i>И.А. Филатова</i>	349
22.2. Инфекционные заболевания век. <i>Е.А. Егоров, Т.М. Волобуева</i>	366
22.3. Аллергические заболевания век. <i>Е.А. Егоров, Т.М. Волобуева</i>	386
22.4. Блефариты. <i>Е.А. Егоров</i>	390
22.5. Халазион. <i>Е.А. Егоров</i>	396
22.6. Заболевания нервно-мышечного аппарата век. <i>И.А. Филатова</i>	398
Глава 23. Заболевания слезных органов	411
23.1. Анатомия и физиология слезных органов. <i>Я.О. Груша</i>	411
23.2. Заболевания слезной железы. <i>Т.Н. Сафонова</i>	414
23.3. Заболевания слезоотводящих путей. <i>Е.Л. Атькова</i>	418
23.4. Синдром сухого глаза. <i>В.В. Бржеский</i>	436
Глава 24. Заболевания конъюнктивы. <i>В.В. Нероев</i>	452
24.1. Бактериальные конъюнктивиты.....	453
24.2. Хламидийные конъюнктивиты.....	460
24.3. Вирусные конъюнктивиты.....	465
24.4. Грибковые конъюнктивиты.....	473
24.5. Аллергические конъюнктивиты.....	476
24.6. Дистрофические заболевания конъюнктивы.....	490
Глава 25. Заболевания роговицы и склеры. <i>Ю.Б. Слонимский,</i> <i>С.Ю. Слонимский</i>	497
25.1. Кератиты	499
25.2. Дистрофии роговицы.....	516
25.3. Изменения формы роговицы	520

25.4. Заболевания склеры.....	522
25.5. Кератопластика и кератопротезирование. А.Ю. Слонимский, Ю.Б. Слонимский.....	525
Глава 26. Увеиты. И.Е. Панова, Е.А. Дроздова	541
Глава 27. Болезни хрусталика. Х.П. Тахтиди	594
27.1. Анатомия и физиология хрусталика	594
27.2. Катаракта	596
27.3. Эктопия хрусталика	620
Глава 28. Заболевания сетчатки и стекловидного тела	622
28.1. Ретинопатия недоношенных. В.В. Нероев, Л.А. Катаргина	622
28.2. Сосудистые заболевания сетчатки. Ю.С. Астахов, С.Н. Тульцева, С.Ю. Астахов.....	634
28.3. Диабетическая ретинопатия. В.В. Нероев, О.В. Зайцева.....	653
28.4. Возрастная макулярная дегенерация. Ю.С. Астахов, А.Б. Лисогкина, С.Ю. Астахов	664
28.5. Отслойка сетчатки. В.В. Нероев, П.А. Илюхин	677
28.6. Ретиношизис. В.В. Нероев, Г.Ю. Захарова	686
28.7. Витреоретинальная хирургия. Х.П. Тахтиди, И.М. Горшков	691
Глава 29. Заболевания зрительного нерва	699
29.1. Воспалительные заболевания зрительного нерва. Е.А. Егоров, Н.Л. Шеремет.....	699
29.2. Токсические поражения зрительного нерва. Е.А. Егоров, Н.Л. Шеремет.....	705
29.3. Передняя ишемическая оптическая невропатия. Т.Н. Киселева	710
29.4. Атрофия зрительного нерва. В.В. Нероев, О.В. Зайцева, Т.Д. Охоцимская.....	716
Глава 30. Глаукома.....	722
30.1. Топография дренажной зоны глаза. А.В. Золотарев, Е.А. Егоров, Е.В. Карлова	722
30.2. Врожденная глаукома. В.В. Бржеский	728
30.3. Подозрение на глаукому. Е.А. Егоров, А.В. Куроедов, А.Ю. Брежнев... ..	738
30.4. Первичная открытоугольная глаукома. Е.А. Егоров, А.В. Куроедов ...	748
30.5. Первичная закрытоугольная глаукома. В.П. Еричев	761
30.6. Вторичная глаукома. В.Н. Алексеев, И.Р. Газизова	772
30.7. Редкие формы глаукомы. А.Г. Шуко, Т.Н. Юрьева	790
30.8. Гипотензивное лазерное и хирургическое лечение глаукомы. Х.П. Тахтиди, Е.А. Егоров.....	802
Глава 31. Косоглазие. В.В. Нероев, Е.П. Тарутта, Н.А. Аклаева	810
31.1. Содружественное косоглазие.....	810
31.2. Несодружественное косоглазие.....	823
Глава 32. Заболевания орбиты. А.Ф. Бровкина.....	833
32.1. Острые воспалительные заболевания орбиты	833
32.2. Хронические неспецифические воспалительные заболевания орбиты	836
32.3. Эндокринная офтальмопатия.....	838
32.4. Паразитарные заболевания орбиты	840
32.5. Сосудистые заболевания орбиты	843
Глава 33. Новообразования глаза и его придаточного аппарата	847
33.1. Опухоли век. Я.О. Груша	847
33.2. Опухоли радужки и цилиарного тела. А.Ф. Бровкина	864

33.3. Опухоли сетчатки. <i>С.В. Саакян</i>	875
33.4. Опухоли хориоидеи. <i>А.Ф. Бровкина</i>	884
33.5. Опухоли орбиты. <i>А.Ф. Бровкина</i>	890
Глава 34. Травмы глаза и его придаточного аппарата.	
<i>Л.К. Мошетова, С.А. Козергин</i>	901
34.1. Закрытая травма глаза.....	902
34.2. Открытая травма глаза.....	911
34.3. Ожоги глаз	925
Глава 35. Нейроофтальмология. <i>Н.К. Серова</i>	930
35.1. Синдромы поражения структур переднего зрительного пути (интракраниального отрезка зрительного нерва, хиазмы и зрительных трактов).....	930
35.2. Зрачковые реакции	937
35.3. Застойный диск зрительного нерва	939
35.4. Глазная мигрень	942
Предметный указатель	944

ПРЕДИСЛОВИЕ

Национальное руководство по офтальмологии обобщает и анализирует современное состояние патогенетических, диагностических, клинических и лечебных аспектов проблемы заболеваний глаз в России и мире.

Работа над изданием проводилась под эгидой Общества офтальмологов России, Ассоциации врачей-офтальмологов и Российского глаукомного общества при активном участии сотрудников ведущих офтальмологических центров и кафедр вузов: НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца, НИИ глазных болезней им. М.М. Краснова, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, РМАНПО, ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова и других научных учреждений РФ. Благодаря объединению в авторский коллектив большого числа ученых и практикующих врачей удалось создать руководство, отражающее согласованную позицию по широкому спектру вопросов отечественной офтальмологии.

Рекомендации по диагностике и лечению заболеваний глаз, приведенные в книге, основаны на опыте ведущих отечественных и зарубежных офтальмологических клиник и принципах доказательной медицины. В третьем издании представлены актуальные сведения об офтальмологической заболеваемости в России, обновлена информация о диагностике и лечении заболеваний слезной железы и слезоотводящих путей, синдрома сухого глаза, диабетической ретинопатии, возрастной макулярной дегенерации. В связи с тем что офтальмология как практическая область медицины стремительно развивается, планируется продолжить переиздавать и обновлять национальное руководство. Любые замечания и предложения по усовершенствованию книги будут с благодарностью приняты авторами и учтены при ее переиздании.



Д-р мед. наук, проф., акад. РАН
Сергей Эдуардович Аветисов



Д-р мед. наук, проф.
Евгений Алексеевич Егоров



Д-р мед. наук, проф., акад. РАН
Лариса Константиновна Мошетова



Д-р мед. наук, проф., чл.-кор. РАН
Владимир Владимирович Неров



Д-р мед. наук, проф., акад. РАН
Христо Периклович Тахиди

Глава 20

Молекулярная генетика глазных заболеваний и эмбриология

Ю.С. Астахов, В.В. Рахманов

Краткие сведения об эмбриогенезе глаза человека

Зачатки глаза у зародыша человека появляются очень рано. На 2-й неделе внутриутробного развития на дорсальной поверхности медуллярной пластинки появляются глазные ямки. В конце 3-й недели развития при замыкании мозговой трубки из них образуются первичные глазные пузыри, которые перемещаются и принимают боковое направление. В результате более быстрого роста задних и боковых частей первичного глазного пузыря происходит образование вторичного пузыря, состоящего из двух слоев (глазного бокала). Формирующуюся зародышевую щель заполняет прилежащая мезодерма, которая образует первичное мезодермальное СТ и сосудистую сеть хориоидеи. Тогда же, к концу 4-й недели развития эмбриона, из поверхностной эктодермы образуется зачаток хрусталика (**рис. 20.1**). Капсула хрусталика возникает на 5-й неделе эмбрионального развития. На 8-й неделе развития в период образования первичного ядра хрусталика начинают формироваться швы хрусталика.

На 5–6-й неделе происходит закрытие зародышевой щели.

Сохранившаяся над хрусталиковым пузырьком эктодерма в дальнейшем дифференцируется в передний эпителий роговицы. Вокруг хрусталикового пузырька формируется сосудистая сумка. Первичное СТ также пронизано большим количеством сосудов. Начинает дифференцироваться ножка глазного бокала, образуется артерия СТ.

Наружный листок бокала в дальнейшем преобразуется в пигментный слой сетчатки, внутренний — дает начало собственно сетчатке. Прорастая впереди хрусталика, края глазного бокала образуют радужную и ресничную части сетчатки. На 7-й неделе развития нервные волокна входят в канал зрительного нерва. Происходит закладка и развитие век и поперечнополосатых мышц глаза. Из мезенхимы, состоящей из клеток нервного гребешка и краиниальной мезодермы, на 8-й неделе происходит закладка склеры. Формируются зрительный нерв, зрительный тракт и частичный перекрест волокон в хиазме. В мезенхиме, которая находится между эктодермой и хрусталиком, появляется щель — передняя камера.

Из мезенхимы в дальнейшем формируются строма роговицы, эндотелий, трабекулярная сеть. На 10-й неделе развития происходит дифференцировка нейроэпителиальных клеток на палочки и колбочки, формируются цилиарное тело, его отростки и мышца (рис. 20.2).

После 12-й недели происходит тонкая дифференцировка всех тканей и формирование функциональных систем. Слезная железа формируется на 3-м месяце внутриутробного развития, а на 5-м месяце слезный канал открывается в носовую полость. На 7-м месяце исчезают мембрана, закрывающая зрачок, артерия СТ, а также спайка между верхним и нижним веком. На 8-м месяце происходит развитие решетчатой пластинки зрительного нерва, исчезает сосудистая сумка хрусталика. На 9-м месяце происходит миелинизация волокон хиазмы и зрительного нерва. Полностью исчезают сосуды СТ, и оно приобретает прозрачность. Завершение некоторых из этих процессов может происходить в течение первых недель после рождения.

В регулировке сложных механизмов пролиферации, дифференцировки и гибели клеток, происходящих в процессе закладки и развития органа зрения, играет важную роль взаимодействие большого количества генов, многие из продуктов которых являются транскрипционными факторами (*PAX6*, семейство *TGF β* , *FOXC1*, *FOXC2*, *FOXE3*, *PITX2*, *PITX3*, *LMX1B*, *CYP1B1* и др.). Нарушения в структуре этих

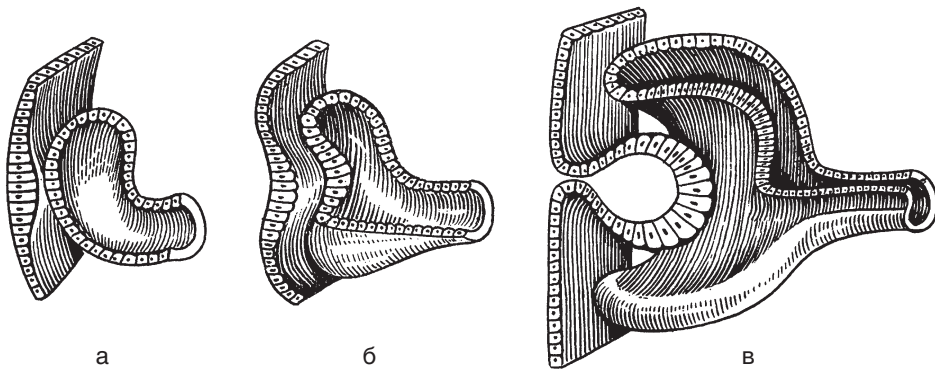


Рис. 20.1. Онтогенез глаза человека: а — первичный глазной пузырь; б — закладка хрусталика в виде утолщения эктодермы над первичным пузырем; в — вторичный глазной пузырь

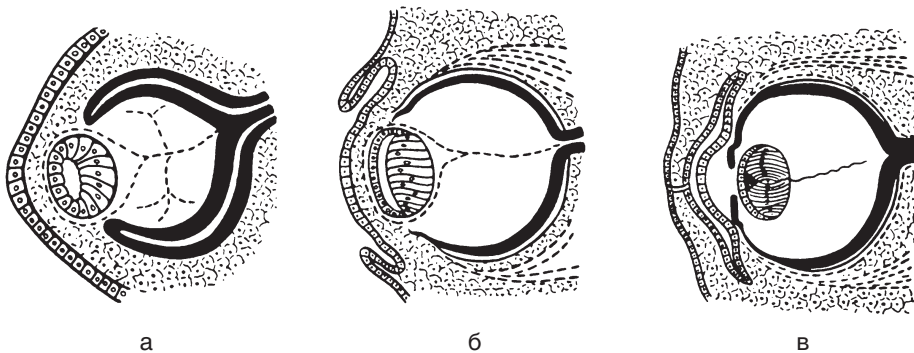


Рис. 20.2. Развитие глаза человека: а — закладка первичного стекловидного тела; б — дифференцировка зрительного нерва и образование артерии стекловидного тела; в — дифференцировка оболочек глаза

генов или их взаимодействия приводят к грубым нарушениям развития. Для гетерозигот по мутациям в генах *SOX2*, *VMR4*, *PAX6* и ряде других характерно наличие выраженного дисгенеза глазных структур. У гомозигот по мутациям в этих генах либо не происходит развития органа зрения, либо они гибнут во внутриутробном периоде вследствие грубых дефектов других органов и тканей (*FOXС1*, *PITX2*).

Краткие сведения о молекулярной генетике глазных болезней

СЛОВАРЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ТЕРМИНОВ

- **Аллель** — вариант структуры гена, обусловленный его родительским происхождением (в соматических хромосомах один из аллелей достается от отца, другой — от матери).
- **Аллельные серии** — моногенные наследственные заболевания, вызванные различными мутациями в одном и том же гене, но относящиеся к разным нозологическим группам по своим клиническим проявлениям.
- **Амплификация** — выборочное копирование определенного участка ДНК.
- **Болезни врожденные** — присутствуют у ребенка с момента рождения:
 - ✧ аутосомные — обусловлены дефектами генов, локализованных в соматических хромосомах, то есть аутосомах;
 - ✧ доминантные — развиваются, когда мутация в одном из двух аллелей достаточна для изменения фенотипа, то есть организм обозначается как гетерозигота;
 - ✧ моногенные — обусловлены дефектом одного гена;
 - ✧ мультифакториальные — имеющие в своей основе как генетическую, так и средовую компоненты;
 - ✧ рецессивные — развиваются при наличии мутаций в обоих аллелях, то есть в гомозиготном организме.
- **Ген** — единица наследственности, определяющая развитие отдельного признака или свойства организма.
- **Гетерозигота** — особь с двумя структурно различными аллелями (нормальным и мутантным) в определенном локусе.
- **Гомозигота** — особь с одинаковыми аллелями (нормальными либо мутантными) в определенном локусе.
- **Инtron** — некодирующая область гена, вырезается в процессе сплайсинга при образовании матричной РНК из первичного РНК-транскрипта.
- **Картирование** — локализация элементов генома на генетической карте.
- **Клонирование** — встраивание чужеродной ДНК в векторную молекулу ДНК или РНК и введение этой конструкции в фаговые, бактериальные или эукариотические клетки хозяина.
- **Кодон** — последовательность из трех нуклеотидов в молекуле ДНК или в матричной РНК, соответствующая определенной аминокислоте или сигналу терминации трансляции:
 - ✧ стоп-кодон (нонсенс-кодон) — сигнал терминации (прекращения) трансляции полипептидной цепи (UGA, UAG, UAA);
 - ✧ иницирующий (стартовый) кодон — AUG-триплет в матричной РНК, кодирующий метионин, с которого начинается образование полипептидной цепи в процессе трансляции.
- **Компаунд** — гомозиготная особь, у которой в двух аллелях одного гена имеются неодинаковые мутации.

- **Комплементарность** (нуклеотидных пар) — образование водородных связей по правилу А–Т, Г–Ц в двухнитевой молекуле ДНК.
- **Локус** — место локализации гена на хромосоме.
- **Мутация** — изменения в последовательности ДНК:
 - ✧ делеция — утрата сегмента ДНК размером от одного нуклеотида до субхромосомного фрагмента, включающего несколько генов;
 - ✧ инсерция — вставка сегмента ДНК размером от одного нуклеотида до субхромосомного фрагмента, включающего несколько генов;
 - ✧ миссенс-мутация (то есть с изменением смысла) — замена нуклеотида в кодирующей части гена, ведущая к замене аминокислоты в соответствующем белковом продукте;
 - ✧ нонсенс — замена нуклеотида в кодирующей части гена, сопровождающаяся образованием стоп-кодона;
 - ✧ сплайсинговая — мутация, затрагивающая сайты (см. ниже) сплайсинга (см. ниже) или создающая новые сайты сплайсинга в интронных областях гена; сопровождается либо делецией смежного с мутацией экзона, либо невырезанием соответствующего интрона при процессинге первичного РНК-транскрипта;
 - ✧ точечная — мутация, затрагивающая от одного до нескольких нуклеотидов.
- **Позиционное клонирование** — метод идентификации генов, основанный на молекулярном анализе субхромосомной области их локализации (обратная генетика — от гена к признаку).
- **Полимеразная цепная реакция (ПЦР)**, или **специфическая амплификация ДНК**, — избирательный синтез *in vitro* большого числа (порядка 1 млн) копий небольшого фрагмента матричной ДНК размером от 50 до нескольких тысяч нуклеотидов; при некоторых условиях возможна амплификация более крупных фрагментов (до 35 000 пар оснований).
- **Полиморфизм** — генетическая изменчивость локуса в определенной популяции.
- **РНК** — нитевидная молекула, в которой остов из чередующихся остатков рибозы и фосфорной кислоты ковалентно соединен с четырьмя азотистыми основаниями — аденином, урацилом, гуанином и цитозином.
- **Сайт** — определенное место в молекуле ДНК.
- **Секвенирование** — определение нуклеотидной последовательности молекулы ДНК.
- **Сплайсинг** — процесс вырезания последовательностей, комплементарных интронам, из молекулы первичного РНК-транскрипта.
- **Транскрипция** — синтез первичных РНК-транскриптов, комплементарных определенным участкам молекулы ДНК (генам).
- **Транскрипционный фактор** — белок активации и/или репрессии генной активности, способный взаимодействовать с молекулами ДНК.
- **Трансляция** — синтез полипептидной цепи по молекуле матричной РНК.
- **Фенотип** — совокупность признаков организма, контролируемых определенным генотипом.
- **Функциональное клонирование** — идентификация генов наследственных болезней, начиная с определения первичного биохимического дефекта (прямая генетика — от признака к гену).
- **Хромосомы** — дискретные внутриядерные структуры, содержащие молекулы ДНК, суперскрученные за счет взаимодействия с гистоновыми белками.
- **Экзон** — кодирующий участок гена.

Основные методы диагностики

Прогресс в доклинической диагностике и понимании молекулярных механизмов сотен моногенных заболеваний и в определении генетических факторов риска развития распространенных болезней человека стал возможен благодаря достижениям молекулярной генетики последних десятилетий. Определенные успехи достигнуты и в изучении механизмов патогенеза мультифакториальных заболеваний, в этиологию которых наряду с факторами внешней среды значительный вклад вносят генетические составляющие. Кроме этого, достижения геномных технологий позволили выявить моногенно наследуемые формы среди мультифакториальных заболеваний.

До развития геномных технологий генеалогический метод был единственным, позволяющим определить группы риска и его степень для определенного заболевания. Для мультифакториальных заболеваний, а также в тех случаях, когда затруднено определение типа наследования болезни, его применение для оценки степени риска имеет меньшее значение, а полученные данные носят ориентировочный, приблизительный характер, и степень их достоверности зависит от полноты генеалогической информации. Методы ДНК-диагностики являются более точными, чем традиционные методы диагностики. Это определяет их незаменимость при проведении медико-генетического консультирования и в развитии предиктивной медицины, так как использование этих методов позволяет точно оценить генетический риск развития заболевания в семье.

Обобщенная и систематизированная информация о локализации и функциях отдельных генов доступна в регулярно обновляемом каталоге наследственных заболеваний человека под названием «Менделевское наследование у человека: каталог человеческих генов и генетических болезней» (Mendelian inheritance in man. Catalogs of autosomal dominant, autosomal recessive and X-linked phenotypes). В нем содержатся сведения более чем о 14 800 генах и 7800 фенотипах.

В настоящее время существует несколько стратегий картирования генов. Первоначально использовалась стратегия функционального клонирования, опирающаяся на знание первичного биохимического дефекта или функции гена. С помощью такого подхода были картированы гены, структурные нарушения в которых приводят к развитию распространенных наследственных заболеваний. Однако процесс картирования продвигался медленно, так как патогенез многих наследственных заболеваний и первичный биохимический дефект неизвестны. Первый аутосомный ген человека был картирован в 1968 г. К 1973 г. на хромосомах человека было картировано всего 64 гена, а к 1994 г. локализовано уже свыше 60 000 маркерных ДНК-последовательностей, в том числе около 5000 структурных генов. Такой прогресс в картировании генов стал возможен благодаря появлению новых технологий и использованию стратегии позиционного клонирования. Эта стратегия основана на информации о локализации гена заболевания на определенной хромосоме или, еще точнее, в ее конкретном сегменте (рис. 20.3).

Однако для большинства генетических заболеваний применяют комбинированный подход, объединяющий функциональное и позиционное клонирование, называемый стратегией позиционного гена-кандидата. На заключительном этапе таких исследований необходимо доказать, что клонированный ген действительно искомым, а нарушение его структуры приводит к заболеванию. Именно поэтому только обнаружение мутаций в гене-кандидате доказывает его связь с развитием наследственного заболевания.

Различают прямую и косвенную ДНК-диагностику наследственных заболеваний. Прямые методы используются, если ген, нарушение последовательности которого приводит к заболеванию, картирован, известно число его экзонов

Отсутствует информация о патофизиологических особенностях заболевания

Анализ генетического сцепления/позиционное клонирование



Подробное описание клинической картины заболевания и его особенностей



Обследование членов семьи и кровных родственников



Коллекция ДНК



Генотипирование/анализ ДНК



Анализ сцепления/примерная локализация гена (на хромосомном уровне)



Картирование гена



**Определение нуклеотидной последовательности гена (секвенирование)
и идентификация мутаций**



Отбор кандидатных генов на основании предположения о возможном их участии в патогенезе заболевания



Патогенез заболевания частично изучен/выбор кандидатного гена

Рис. 20.3. Подходы к идентификации генов

и интронов, а в идеале — и нуклеотидная последовательность. В остальных случаях используют косвенные методы ДНК-диагностики, основанные на использовании сцепленных с геном полиморфных маркеров. Точные молекулярные характеристики каждой мутации могут быть получены только после прямого секвенирования (определения нуклеотидной последовательности). Однако секвенирование всех экзонов для обнаружения мутаций у каждого отдельного пациента трудоемко, дорого и требует больших затрат времени. Именно поэтому на практике сначала более простыми методами проводят предварительный отбор фрагментов ДНК, предположительно содержащих мутации, и в дальнейшем их секвенируют. Методы первичного поиска фрагментов ДНК, предположительно содержащих мутации, основаны на сравнении мутантных и нормальных последовательностей по ряду физических и химических характеристик. Например, небольшие делеции и инсерции приводят к изменению размеров амплифицированных фрагментов ДНК. Эти изменения могут быть зарегистрированы при электрофорезе этих фрагментов в полиакриламидном геле. При точечной мутации гена, то есть замене одного

нуклеотида, длина фрагмента остается постоянной, однако изменяются некоторые физико-химические свойства мутантной ДНК.

SSCP-анализ (Single-strand conformation polymorphism, анализ полиморфизма одноцепочечной конформации) — анализ конформационного полиморфизма однонитевых фрагментов ДНК. Метод основан на регистрации различий в электрофоретической подвижности однонитевых фрагментов ДНК. Различия в скорости миграции разных по нуклеотидному составу однонитевых ДНК при проведении их электрофореза в полиакриламидном геле связаны с образованием этими молекулами различных конформаций, индивидуальность которых зависит от различий в их первичной структуре.

DGGE (Denaturing gradient gel electrophoresis) — денатурирующий градиентный гель-электрофорез основан на зависимости свойств плавления (или денатурации) небольших двухнитевых молекул ДНК от их нуклеотидной последовательности, а точнее, от соотношения пар А–Т и G–C в исследуемых фрагментах. При электрофорезе амплифицированных двухнитевых фрагментов ДНК в геле с линейно возрастающей концентрацией денатурирующих веществ плавление нитей ДНК происходит в строго специфичной для данной последовательности области, соответствующей температуре плавления (разъединения нитей ДНК). После начала плавления продвижение двухнитевого фрагмента ДНК в геле резко замедляется.

СМС (Chemical Mismatch Cleavage) — метод химического расщепления некомплементарных сайтов, основан на способности некоторых химических агентов специфически разрывать нить ДНК в месте локализации неспаренного основания.

НА (Heteroduplex Analysis) — метод гетеродуплексного анализа, позволяет идентифицировать мутации, находящиеся в компаунде или гетерозиготном состоянии. Метод гетеродуплексного анализа использует преимущество образования гетеродуплексов между двумя разными видами ДНК (мутантной и дикого типа) после их совместного нагревания и медленного охлаждения. При амплификации (ПЦР) происходит естественное образование двух типов структур: гомо- и гетеродуплексов. При этом каждый тип структуры оказывается представленным двумя видами разных молекул. Присутствие гетеродуплексов в большинстве случаев легко выявляется после электрофореза в полиакриламидном геле.

Наиболее распространенный способ скрининга мутаций — комбинация SSCP и гетеродуплексного методов, позволяющая выявить точечную мутацию почти в 100% случаев.

При описании гена указывают его хромосомную локализацию, используя данные о дифференциальной окраске метафазных хромосом. Согласно им, каждая хромосома может быть разделена на сегменты, нумерация которых начинается вверх от центрального района (короткое плечо *p*) или вниз (длинное плечо *q*). Для примера возьмем локус *GLC1G* (5q22.1), ассоциированный с развитием ПОУГ. Такая запись означает, что ген (*WDR36*) локализован в 1-й субъединице 2-го бэнда 2-го сегмента длинного плеча хромосомы 5.

Номенклатура мутаций. Для описания мутаций и полиморфизмов используют общепринятую номенклатуру, предложенную Артуром Боде и Лап-Чи Тсуи в 1992 г. Она рассчитана на запись изменений в нуклеотидной последовательности гена и соответствующих аминокислотных замен в белке. Для обозначения аминокислотных замен при миссенс- и нонсенс-мутациях используют однобуквенные обозначения аминокислот (**табл. 20.1**). Например, запись E50K означает замену глутаминовой кислоты лизином в 50-м положении полипептидной цепи. При нонсенс-мутациях X обозначает место остановки синтеза полипептидной цепи. Например, Q368X означает замену глутамин-сигналом в 368-м кодоне. В случае делеции или инсерции одного или двух нуклеотидов приводится их буквенное обозначение (555delC), трех и более нуклеотидов — указывается только их число (850ins7).

Таблица 20.1. Однобуквенное обозначение аминокислот

Трехбуквенное обозначение	Аминокислота	Однобуквенное обозначение
Ala	Аланин	A
Arg	Аргинин	R
Asn	Аспарагин	N
Asp	Аспарагиновая кислота	D
Cys	Цистеин	C
Gln	Глутамин	Q
Glu	Глутаминовая кислота	E
Gly	Глицин	G
His	Гистидин	H
Ile	Изолейцин	I
Leu	Лейцин	L
Lys	Лизин	K
Met	Метионин	M
Phe	Фенилаланин	F
Pro	Пролин	P
Ser	Серин	S
Thr	Треонин	T
Trp	Триптофан	W
Tyr	Тирозин	Y
Val	Валин	V

Одним из важных итогов молекулярно-генетических исследований моногенных болезней стало доказательство их генетической гетерогенности. Это может быть обусловлено несколькими причинами. С одной стороны, один и тот же фенотип бывает обусловлен мутациями в разных генах. С другой стороны, мутации одного и того же гена могут приводить к совершенно разным клиническим проявлениям (аллельные серии). Как пример можно рассмотреть хорошо известные заболевания — пигментный ретинит (**табл. 20.2, 20.3**), врожденную открытоугольную глаукому и ПОУГ (**табл. 20.4, 20.5**). Моногенные формы пигментного ретинита наследуются по аутосомно-доминантному (30–40%), аутосомно-рецессивному (50–60%), X-сцепленному (5–15%) типу наследования или по типу, характерному для болезней, вызванных мутациями в митохондриальной ДНК.

При аутосомно-доминантном типе наследования для развития заболевания достаточно одного мутантного аллеля. Характерны также передача от поколения

к поколению, 50% риск развития заболевания в каждом поколении, отсутствие разницы в частоте заболевания между полами. Пигментный ретинит с таким типом наследования характеризуется поздним проявлением клинических симптомов, длительным сохранением центрального зрения. К настоящему времени идентифицировано более 25 генов, мутации в которых вызывают развитие данной формы пигментного ретинита (см. табл. 20.2).

Таблица 20.2. Гены и локусы, ассоциированные с развитием пигментного ретинита с аутосомно-доминантным типом наследования

Локус и его хромосомная локализация	Ген	Частота встречаемости мутаций, %
RP4 (3q21-q24)	<i>RHO</i>	20–30
RP11 (19q13.42)	<i>PRPF31</i>	5–10
RP7 (6p21.1)	<i>PRPH2 (RDS)</i>	5–10
RP1 (8q12.1)	<i>RP1 (ORP1)</i>	3–4
RP10 (7q32.1)	<i>IMPDH1</i>	2–3
RP13 (17p13.3)	<i>PRPF8</i>	2–3
RP42 (7p15.3)	<i>KLHL7</i>	1–2
RP37 (15q23)	<i>NR2E3</i>	1–2
RP11 (19q13.33)	<i>CRX</i>	1
RP18 (1q21.2)	<i>PRPF3</i>	1
RP31 (9p21.1)	<i>TOPORS</i>	1

Таблица 20.3. Гены и локусы, ассоциированные с развитием пигментного ретинита с аутосомно-рецессивным типом наследования

Локус и его хромосомная локализация	Ген	Частота встречаемости мутаций, %
RP39/USH2A (1q41)	<i>USH2A</i>	10–15
RP20 (1p31.3)	<i>RPE65</i>	2–5
RP19 (1p22.1)	<i>ABCA4 (ABCR)</i>	2–5
R40 (4p16.3)	<i>PDE6B</i>	2–5
RP42 (5q32)	<i>PDE6A</i>	2–5
RP49 (4p12)	<i>CNGA1</i>	1–2
RP14 (6p21.31)	<i>TULP21</i>	1
RP61 (3q25.1)	<i>CLRN1</i>	1

Таблица 20.4. Гены, связанные с развитием первичной открытоугольной глаукомы, и соответствующие им локусы

Локус и его хромосомная локализация	Ген	Тип наследования	Тип глаукомы
GLC1A (1q24.3-q25.2)	<i>MYOC/TIGR</i> (миоцилин)	Аутосомно-доминантный	Юношеская глаукома, ПОУГ, ГПНД
GLC1E (10p15-p14)	<i>OPTN</i> (оптиневрин)	Аутосомно-доминантный	ГПНД, ПОУГ
GLC1F (7q36.1)	<i>ASB10</i>	Аутосомно-доминантный	Юношеская глаукома, ПОУГ, ГПНД
GLC1G (5q22.1)	<i>WDR36</i>	Аутосомно-доминантный	ПОУГ, ГПНД
GLC1O (19q13.3)	<i>NTF4</i>	Аутосомно-доминантный	ПОУГ, ГПНД
GLC1P (12p14)	<i>TBK1</i>	Аутосомно-доминантный	ГПНД

Примечание. ГПНД – глаукома псевдонормального давления; ПОУГ – первичная открытоугольная глаукома.

Таблица 20.5. Локусы, связанные с развитием врожденной глаукомы

Локус и его хромосомная локализация	Ген	Тип наследования	Тип глаукомы
IGDA (6p25)	<i>FKHL7</i>	АД	Аномалия Аксенфельда (АА), синдром Ригера (СР), гипоплазия радужки (ГР)
RIEG 1 (4q25-q26)	<i>PITX2</i>	АД	АА, СР, ГР
RIEG 2 (13q14)	—	АД	АА, СР, ГР, аномалия Петерса
GLC3A (2p21-p22)	<i>CYP1B1</i> (цитохром P4501B1)	АР	СР, врожденная глаукома
GLC3B (1p36.1-p36.2)	—	АР	Врожденная глаукома
GLC3D, 14q24	<i>LTBP2</i>	АР	Врожденная глаукома
NPS (9q34.1)	<i>LMX1B</i>	АД	Nail-patella синдром (наследственная остеоониходисплазия), открытоугольная глаукома
AN2 (11p13)	<i>PAX6</i>	АД	Аниридия и врожденная глаукома
OPA1 (3q28-q29)	<i>OPA1</i>	АД	АЗН, глаукома псевдонормального давления
MFS (15q21.1)	<i>FBN1</i> (фибрилин1)	АД	Синдром Марфана
WMS (19p13.3-p13.2)	—	АД, АР	Синдром Вейля–Маркезани
OCRL (Xq26.1)	<i>OCRL1</i>	АД	Синдром Лоу

Примечания: АД – аутосомно-доминантный; АР – аутосомно-рецессивный.

При аутосомно-рецессивном типе наследования болеют только гомозиготные носители мутации. Именно поэтому характерно отсутствие заболевания в предшествующих поколениях. Поражаются братья и сестры (сисбы). Для пигментного ретинита характерны быстрое снижение остроты зрения, начало заболевания в раннем детстве и высокая вариабельность клинической картины. Для данной формы заболевания идентифицировано более 50 генов (см. табл. 20.3).

При X-сцепленном типе наследования болеют мужчины, а женщины — лишь носители гена. Это наиболее тяжелая форма пигментного ретинита. Частичная слепота наступает уже в первой декаде жизни. К настоящему времени картированы два локуса, а также идентифицированы гены, связанные с развитием данной формы пигментного ретинита. На долю гена *RPGR* [RP3 (Xp11.4)] приходится 70–90% всех выявленных мутаций, на долю *RP2* [RP2 (Xp11.3)] — 10–20%.

Болезни, вызванные мутациями в ДНК митохондрий, наследуются по материнской линии. Типично присутствие мутаций только в части молекул митохондриальной ДНК (гетероплазмия), доля которых варьирует в разных тканях. Именно поэтому характерна разная клиническая картина болезни у пациентов с разными родословными, а также у членов одной семьи, несущих одинаковые мутации в митохондриальной ДНК. Кроме пигментного ретинита, мутации в митохондриальных генах приводят к развитию наследственной оптической невропатии Лебера, прогрессирующей наружной офтальмоплегии, синдрома Кернса–Сэйра. Причем более 90% случаев заболевания оптической невропатией Лебера в мире вызвано одной из трех мутаций [11778 G→A (69%) в гене *ND4*, на две другие мутации в позициях 3460 (ген *ND1*) и 14484 (ген *ND6*) приходится 13 и 14% соответственно].

На сегодняшний день идентифицировано несколько десятков локусов, связанных с развитием ПОУГ; 17 из них, согласно Комитету по номенклатуре генов (HUGO genome nomenclature committee), имеют обозначения *GLC1A-GLC1Q*. Но только для шести из них определены гены и описаны мутации. Это гены: *MYOC/TIGR* (*GLC1A*, 1q24.3-q25.2), кодирующий белок миоцилин, *OPTN* (*GLC1E*, 10p14-p15), кодирующий белок оптиневрин, *ASB10* (*GLC1F*, 7q36.1), *WDR36* (*GLC1G*, 5q22.1), *NTF4* (*GLC1O*, 19q13.33), кодирующий белок нейротрофин 4 и *TBK1* (*GLC1P*, 12p14) (см. табл. 20.4). Мутации в этих генах ответственны за развитие от 2 до 20% случаев данного заболевания, а их носители имеют риск развития ПОУГ в течение жизни, варьирующий от 60 до 100%.

В 1993 г. К. Кенуан и соавт. картировали *LOXL1* ген на длинном плече хромосомы 15 (15q24.1). Дальнейшие исследования показали связь различных SNP (однонуклеотидных полиморфизмов) с развитием псевдоэксфолиативной глаукомы. Белковый продукт этого гена является лизилоксидазой (*LOXL1*) и участвует в окислительном деаминировании остатков лизина в тропоэластине, что приводит к полимеризации эластина. Показана также ассоциация локуса (*CACNA1A* rs4926244) с развитием псевдоэксфолиативной глаукомы.

Анализ сцепления позволяет выявить моногенные формы глаукомы, однако в большинстве случаев имеет место мультифакториальный тип развития заболевания. В настоящее время показана связь нескольких сотен генов с риском развития различных форм глаукомы. Это стало возможным благодаря использованию метода полногеномного поиска ассоциаций (Genome-Wide Association Studies — GWAS), основанного на исследовании ассоциаций между геномными вариантами и фенотипическими признаками.

Некоторые известные на сегодняшний день локусы, ассоциированные с развитием наследственных заболеваний глаза, представлены в табл. 20.6, 20.7.

Таблица 20.6. Локусы, ассоциированные с развитием наследственных заболеваний глаза

Локус и его хромосомная локализация	Ген	Тип наследования	Нозологическая форма
(12q13.1-q13.3) (1p21)	<i>COL2A1</i> <i>COL11A1</i>	АД	Синдром Стиклера I/II
F8 (Xq28)	—	X-сцепленный	Болезнь Борнхолма
(5q12-q14)	<i>WGN1</i>	АД	Синдром Вагнера
USH1B (11q13.5) USH1C (11p15.1) USH1D (10q22.1) USH1F (10q21.1) USH1G (17q25.1) USH1J (15q25.1)	<i>MYO7A</i> <i>USH1C</i> <i>CDH23</i> <i>PCDH15</i> <i>USH1G</i> <i>CIB2</i>	АР	Синдром Ашера, тип 1
USH2A (1q41) USH2C (5q14.3) USH2D (9q32)	<i>USH2A</i> <i>ADGRV1</i> <i>DFNB31</i>	АР	Синдром Ашера, тип 2
LCA1 (17p13.1) и еще 16 локусов	<i>GUCY2D</i>	АР	Врожденный амавроз Лебера
CSNB1 (Xp11.4-p11.3) CSNB2 (Xp11.23)	<i>NYX</i> <i>CACNA1F</i>	X-сцепленный	Врожденная стационарная ночная слепота
(19q13.33) (1p22.1) (8q21.3) RCD4 (12p13.33) (6q25-q26) (Xp21.1-p11.3) (6p21.1)	<i>CRX</i> <i>ABCA4</i> <i>CNGB3</i> <i>CACNA2D4</i> <i>-GUCA1A</i>	АД АР АР АР АД X-сцепленный АД	Колбочковые дистрофии
(11q12.3)	<i>BEST1</i>	АД	Болезнь Беста
(Xp22.13)	<i>RS1</i>	X-сцепленный	X-хромосомный сцепленный с полом ретиношизис
(11q13-q23)	<i>EVR1</i>	АД	Семейная экссудативная витрео- ретинопатия (болезнь Крисвика– Скеленса). Болезнь Норри, болезнь Коатса
(Xp11.4-p11.3)	<i>NDP</i>	X-сцепленный	
NF2 (22q12.2)	<i>NF2</i>	АД	Нейрофиброматоз II типа
NF1 (17q11.2)	<i>NF1</i>	АД	Нейрофиброматоз I типа (болезнь Реклингхаузена)
(3p25.3) (11q13)	<i>VHL</i> <i>CCND1</i>	АД	Болезнь Гиппеля–Линдау
(9q33-q34) (11q23) (16p13.3) (12q14)	—	АД	Туберозный склероз (болезнь Бурневила)

Локус и его хромосомная локализация	Ген	Тип наследования	Нозологическая форма
(13q14.1-q14.3)	<i>RB1</i>	АД	РБ
(Xq21.2)	<i>CHM</i>	Х-сцепленный	Хориоидеремия
(Xq24-q27.1) (8q21.12) (1p34.1-p32)	—	Х-сцепленный АД АД	Врожденный птоз века
CFEOM1 (12q12) CFEOM3 (16q24.2-q24.3) CFEOM2 (11q13.3-q13.4)	<i>KIF21A</i>	АД АД АД	Фиброз экстраокулярных мышц
MCDR2 (4p15.32)	<i>PROM1</i>	АД	Макулодистрофия по типу «бычий глаз»
(22q12.3) 22q12.3	<i>TIMP3</i>	АД	Дистрофия Сорсби
(4q35.1)	<i>CYP4V2</i>	АР	Кристаллиновая дистрофия сетчатки
(8q22-q23)	<i>COH1</i>	АР	Синдром Кохена
(2p16)	<i>EFEMP1</i>	АД	Коллоидная дистрофия Дойна, левентинская болезнь
(10q24.3-q25.1)	<i>PAX2</i>	АД	Папиллоренальный синдром
(20p11.21)	<i>VSX1</i>	АД	Кератоконус
(21q22.3) (11q22.3-q23.1) (2q33-q35) (14q24-qter)	<i>CRYAA</i> <i>CRYAB</i> <i>CRYGD</i> <i>CTAA1</i>	АД	Врожденная катаракта
(Xq26.2)	—	Х-сцепленный	Нистагм
(1q21)	<i>GBA</i>	АР	Болезнь Гоше (тип IIIc)
(18q11.2)	<i>NPC1</i>	АР	Болезнь Нимана–Пика
(15q23)	<i>HEXA</i>	АР	Болезнь Тей–Сакса

Примечания: АД – аутосомно-доминантный; АР – аутосомно-рецессивный.

Таблица 20.7. Генетическая классификация альбинизма

Локус и его хромосомная локализация	Ген	Тип наследования	Нозологическая форма
OCA1 (11q14.3)	<i>TYR</i>	АР	Тиразиназозависимые типы альбинизма (глазокожный альбинизм, типы 1А, 1В)
OCA2 (15q12-q13)	<i>OCA2</i> (<i>P-gene</i>)	АР	П-гензависимые типы альбинизма (глазокожный альбинизм, тип 2)

Локус и его хромосомная локализация	Ген	Тип наследования	Нозологическая форма
OCA3 (9p23)	<i>TYRP1</i>	AP	Глазокожный альбинизм, тип 3
OCA4 (5p13.2)	<i>SLC45A2</i>	AP	Глазокожный альбинизм, тип 4
HPS1 (10q24.2) HPS2 (5q14.1) HPS3 (3q24) HPS4 (22q12.1) HPS5 (11p15.1) HPS6 (10q24.32) HPS7 (6p22.3) HPS8 (19q13.32) HPS9 (15q21.1)	<i>HPS1</i> <i>AP3B1</i> <i>HPS3</i> <i>HPS4</i> <i>HPS5</i> <i>HPS6</i> <i>DTNBP1</i> <i>BLOC1S3</i> <i>BLOC1S6</i>	AP	Синдром Германского–Пудлака
CHS1 (1q42.3)	<i>LYST</i>	AP	Синдром Чедиака–Хигаси
OA1 (Xp22.2)	<i>GPR143</i>	X-сцепленный	X-связанный глазной альбинизм

Спектр мутаций в генах, связанных с развитием различных глазных заболеваний, является этнически и популяционно специфичным, что было продемонстрировано в том числе и в наших работах, посвященных молекулярно-генетическим основам различных форм глаукомы. Это делает невозможным в России в целях диагностики опираться на данные, полученные в других странах.

Имеющийся на сегодня огромный объем информации о роли наследственности в развитии офтальмологических заболеваний позволяет проводить медико-генетическое консультирование (точный диагноз, объективная оценка риска развития заболевания у родственников больного, прогноз). Таким образом, становится возможным индивидуальный подход к больному (профилактика, лечение и диагностика заболевания на основе генетических особенностей пациента), а также исследования по фармакогенетике и разработка методов генной терапии заболеваний. Так, в последние годы при ряде моногенных заболеваний сетчатки с успехом применяются методы генной терапии, при которых доставка генетической информации осуществляется с помощью различных вирусных векторов (аденовирусных, аденоассоциированных и лентивирусных). Однако возможные нежелательные последствия такой терапии (возникновение иммунного ответа, мутагенез, а также невозможность переноса генов больше 5–9 kb) значительно ограничивают применение данного метода. Именно поэтому в последнее время ведутся исследования по разработке альтернативных, невирусных источников доставки генетической информации (таких как липосомы, полимеры и наночастицы).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

