DOI: 10.25557/2073-7998.2018.12.52-58

# MLPA-анализ генов *CCM* у больных с различными формами кавернозных мальформаций ЦНС в российской популяции

**Булыгина Е.С.[1], Белоусова О.Б.[2], Цыганкова С.В.[1], Окишев Д.Н.[2], Недолужко А.В.[1], Прохорчук Е.Б.[3], Скрябин К.Г.[1,3], Коновалов А.Н.[2]**

[1] — Национальный Исследовательский Центр «Курчатовский институт», Москва
[2] — ФГАУ «Национальный Медицинский Исследовательский Центр нейрохирургии имени акад. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва
[3] — ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва
e-mail для связи: okishev@neurovascular.ru

Мутации в генах *CCM*, обусловливающие образование кавернозных мальформаций (КМ), активно изучаются и их список постоянно пополняется. Анализ мутаций в генах *CCM* проводится, как правило, двумя основными подходами: мультиплексной лигазозависимой амплификацией (MLPA) — для поиска крупных делеций/вставок, и секвенированием экзонов — для поиска мутаций, приводящих к аминокислотным заменам, появлению преждевременной терминации трансляции, сдвигам рамки считывания и нарушению сплайсинга. На основе этих данных создаются более дешевые диагностические тест-системы, позволяющие выявлять мутантные аллели с целью предсказания возможного возникновения и развития церебральных каверном. **Цель работы.** Определение крупных делеций в генах *CCM*, ассоциированных с формированием церебральных КМ, у больных со спорадической и наследственной формами заболевания в российской популяции. **Материал и методы**. Генетические исследования выполнены у 92 больных: 45 — с наследственной формой заболевания, 2 — с условно доказанными семейными каверномами и 45 — со спорадическими каверномами, а также у 10 здоровых родственников. Во всех случаях выполнен поиск крупных мутаций методом MLPA. **Результаты**. В 10 образцах выявлены крупные перестройки в одном из генов *CCM* (*CCM1, CCM2, CCM3*), в том числе у 1 больного с условно семейной формой КМ и у 3 — со спорадической формой. Из семи выявленных мутаций четыре ранее не были описаны. Выявлены две делеции в гене *CCM3* [PDCD10], для которого подобные мутации пока не были описаны. Соотношение мутаций в генах *CCM1, CCM2 и CCM3* составило 40%, 30% и 30% соответственно. Наиболее агрессивное клиническое течение отмечено у больных с мутациями в гене *CCM3*. **Выводы**. Проведенный анализ показал, что крупные делеции в генах *CCM* достаточно распространены у больных со спорадической и наследственной формами заболевания в российской популяции и составили примерно 11% от исследованной выборки. Выявлены новые мутации, ранее не описанные в других популяциях.

**Ключевые слова:** кавернома, кавернозная мальформация ЦНС, наследственные каверномы, мутации генов каверном, MLPA.

Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Работа поддержана Российским Фондом Фундаментальных Исследований (РФФИ) проект № 17-04-01957; НИЦ «Курчатовский институт».

## MLPA-analysis of the *CCM* genes in patients with various forms of Cerebral Cavernous Malformations of the CNS in Russian Federation

**Boulygina E.S.[1], Belousova O.B.[2], Tsygankova S.V.[1], Okishev D.N.[2], Nedoluzhko A.V.[1], Prohorchuk E.B.[3], Skryabin K.G.[1,3], Konovalov A.N.[2]**

[1] — National Research Centre «Kurchatov Institute», Moscow, Russia
[2] — N.N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery, Moscow
[3] — Institute of Bioengineering, Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Mutations in the *CCM* genes causing the formation of cavernous malformations (CM) are being actively studied and their list is constantly growing. Mutations in the *CCM* genes are usually analyzed using two main approaches: multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) — to search for large deletions/insertions and exon sequencing — to search for mutations leading to amino acid substitutions, the appearance of premature translation termination, reading frame shifts and splice site junction. On the basis of these data, cheaper diagnostic test systems are created that allow the identification of mutant alleles in order to predict the possible occurrence and development of cerebral cavities. **Objective.** Identification of large deletions in *CCM* genes associated with the developing of cerebral CM in patients with sporadic and hereditary forms of the disease in the Russian population. **Methods.** Blood samples from 92 selected patients were examined, among them — 45 with a hereditary form of the disease, 2 — with clinically confirmed familial cases and 45 — so-called sporadic cases, as well as in 10 healthy relatives. Presence of large deletions/duplications was detected by multiplex ligation-dependent probe amplification (MPLA). **Results.** Major rearrangements in one of the *CCM* genes (*CCM1*, *CCM2*, *CCM3*) were identified in 10 samples, including 2 patients with conditionally familial form of CM, and 3 patients with a sporadic form.

Of the seven types of mutations identified, four were not previously described. Two deletions in the *CCM3* [PDCD10] gene were identified, for which such mutations have not yet been described. The ratio of mutations in the *CCM1*, *CCM2* and *CCM3* genes was 40%, 30% and 30%, respectively. The most aggressive clinical course was observed in patients with mutations in the *CCM3* gene. **Conclusion.** The analysis showed that large deletions in the genes of *CCM* are quite common in patients with sporadic and hereditary forms of the disease in the Russian population and accounted for approximately 11% of the studied sample. At the same time, new types of mutations that are not described in other populations have been identified

**Keywords:** familial cerebral cavernous malformation, genes *CCM1, CCM2, CCM3,* detection of gene mutations.

## Введение

Кавернозные мальформации (КМ, каверномы) ЦНС представляют собой совокупность сосудистых полостей различных размеров и формы, содержащих продукты распада крови, которые могут формироваться в различных отделах головного и спинного мозга. Их встречаемость в европейской популяции оценивается в 0,1—0,5%. Различают спорадические и наследственные (семейные) формы КМ. Первые, как правило, представлены одиночными образованиями, последние, в основном, множественными. Наследственные КМ составляют примерно треть от всех случаев и наследуются аутосомно-доминантно с различной пенетрантностью и экспрессивностью признака [1, 2].

В настоящее время выявлено три так называемых *CCM* гена, мутации в которых связаны с образованием каверном: *CCM1* (*KRIT1*) и *CCM2* (MGC4607), локализованные на 7-й хромосоме (7q21-22 и 7p13-15 соответственно) [3, 4, 5], и *CCM3*, локализованный на 3-й хромосоме (3q25.2-27) [6]. В этих генах описано более 100 мутаций, включающих делеции от нескольких экзонов до целого гена [7, 8]. Список мутаций в генах *CCM* продолжает пополняться усилиями исследователей в различных странах [9, 10] , но в России такая работа до настоящего времени не проводилась. Известно, что каждая популяция характеризуется своими спектром мутаций и частотами их встречаемости. На территории Российской Федерации проживает большое количество народов, относящихся к разным антропологическим типам, и здесь достаточно долго происходил контакт европеоидной и монголоидной рас, что, несомненно, повлияло на формирование генофонда населения. Изучение мутаций, связанных с наследственными заболеваниями среди населения России, необходимо для лучшего понимания механизмов развития этих заболеваний и поиска новых подходов к их лечению [11, 12].

*Цель работы*: выявление крупных мутаций в генах *CCM* у больных со спорадической и наследственной формой патологии в российской популяции.

## Материал и методы

В анализ были включены больные с КМ ЦНС, обследованные в НИИ нейрохирургии (с 2017 г. — НМИЦ нейрохирургии) им. акад. Н.Н. Бурденко и, по возможности, их здоровые родственники. Среди больных выявлено 45 человек (из 30 семей) с наследственными кавернômами, подтвержденными методами нейровизуализации (доказанные случаи), 2 человека, у которых семейный характер патологии доказан только по клиническим данным, без нейровизуализационного подтверждения (далее — условно доказанные случаи) и 45 человек со спорадическими каверномами. У всех этих пациентов с их письменного согласия были взяты образцы крови для генетических исследований. Также в 8 семьях образцы крови были взяты у здоровых родственников (10 человек). Таким образом, собрана коллекция ДНК, насчитывающая 92 образца крови больных и 10 контрольных образцов.

*Выделение ДНК.* ДНК выделяли из периферической крови с использованием наборов QIAamp DNA mini kit (Qiagen, Германия) согласно рекомендациям производителя.

*MLPA-анализ.* Поиск крупных структурных перестроек (делеций/вставок) в генах *CCM* проводили методом мультиплексной лигазозависимой амплификации (MLPA) с использованием наборов SALSA P130 и P131 (MRC Holland) согласно рекомендациям производителя. На реакцию использовали 70—120 нг ДНК. Анализ данных проводили с использованием пакета программ Coffalyser.NET. При наличии образца ДНК больных родственников анализ проводился независимо на каждом образце. Во всех случаях, где было возможно, в анализ включали ДНК здоровых родственников в качестве отрицательного контроля.

*Клинико-нейрорадиологический анализ.* У каждого больного оценены следующие параметры течения заболевания и данные МРТ: возраст манифестации, кровоизлияния в анамнезе, количество и размер каверном, новообразование и рост каверном. Каверномы оценивались как «активные» при манифестации заболевания до 18 лет, кровоизлиянии в анамнезе, размере каверномы более 2 см, новообразовании и/или росте каверном, зафиксированных нейровизуализационными методами [13].

## Результаты

Методом MLPA были проанализированы все образцы ДНК. Результаты анализа представлены в табл. 1, в которую включены только те образцы, в которых были найдены крупные перестройки в генах *CCM*. В табл. 2 представлена характеристика больных, у которых выявлены мутации. Ни в одном из образцов не были обнаружены крупные вставки. В 10 образцах были выявлены

крупные перестройки: делеции одного и более экзонов. Из этих образцов 6 относились к доказанным наследственным случаям (4 семьи), 1 — к условно доказанным случаям (1 семья), 3 — к так называемым спорадическим случаям. В тех случаях, когда анализировалась ДНК больных родственников, расхождений в результатах анализа не наблюдалось, что подтверждало наследственный характер патологии. Во всех случаях, когда выявлялись мутации, проводились независимые повторы эксперимента.

В гене *CCM1* (*KRIT1*) были найдены три гетерозиготных мутации: ранее описанная делеция всех экзонов [14] была выявлена у пациента с множественной спорадической формой КМ; у двух членов одной семьи также с множественными КМ независимо была выявлена делеция экзонов 9—11, аналогичная описанной ранее [7]; еще одна ранее не описанная мутация (делеция экзона 12) была выявлена также у пациента с множественной спорадической формой КМ (рис. 1). У всех этих больных заболевание проявилось клинически в возрасте старше 17 лет.

У трех пациентов были выявлены мутации в гене *CCM2* (*MGC4607*): у двух родственников с одиночной и множественными церебральными КМ была обнаружена описанная ранее делеция всех экзонов этого гена [15], причем одним из этих пациентов был младенец с началом заболевания до 1 года. Еще у одного пациента с множественной семейной формой выявлена *de novo* делеция экзона 6 (рис. 2).

Анализ образцов ДНК российских пациентов также позволил найти крупные перестройки в гене *CCM3* (*PDCD10*), в котором ранее подобные крупные мутации не отмечались. В двух неродственных образцах выявлена делеция экзона 3 этого гена (рис. 3), при этом у обоих пациентов были множественные КМ с семейной и условно семейной формой заболевания, и один из этих пациентов — также ребенок с ранним началом заболевания (5 лет). Еще в одном образце (пациент с множественными КМ и спорадической формой) обнаружена делеция экзонов 1—3 данного гена.

У больных с крупными делециями в гене *CCM3* наблюдалось тяжелое клиническое течение заболевания,

*Таблица 1*

**Мутации в генах *CCM*, выявленные у больных с различными формами КМ методом MLPA**

| № образца (Семья №) | Ген | Описание выявленной мутации | Ссылка на описание |
|---|---|---|---|
| 39 (1) | *CCM3* | Делеция экзона 3 | Данное исследование |
| 44 (2) | *CCM2* | Делеция всех экзонов | [15] |
| 75 (2) | *CCM2* | Делеция всех экзонов | [15] |
| 48 | *CCM2* | Делеция экзона 6 | Данное исследование |
| 56 | *CCM1* | Делеция всех экзонов | [14] |
| 61 (3) | *CCM3* | Делеция экзонов 1—3 | Данное исследование |
| 62 (4) | *CCM3* | Делеция экзонов 3 | Данное исследование |
| 69 (5) | *CCM1* | Делеция экзонов 9—11 | [7] |
| 70 (5) | *CCM1* | Делеция экзонов 9—11 | [7] |
| 78 | *CCM1* | Делеция экзона 12 | Данное исследование |

*Таблица 2*

**Краткая характеристика пациентов с выявленными мутациями в генах *CCM***

| № образца (Семья №) | Возраст манифестации, лет | Форма | Характер каверном | "Клиническая активность" |
|---|---|---|---|---|
| 39 (1) | 49 | Условно семейная | Множественные | Есть |
| 44 (2; мать) | 32 | Семейная | Множественная | Есть |
| 75 (2; дочь) | 4 мес. | Семейная | Одиночная | Есть |
| 48 | 34 | Семейная | Множественная | Есть |
| 56 | 40 | Спорадическая | Множественные | Есть |
| 61 (3) | 32 | Спорадическая | Множественные | Есть |
| 62 (4) | 5 | Семейная | Множественные | Есть |
| 69 (5; отец) | 49 | Семейная | Множественные | Есть |
| 70 (5; сын) | 17 | Семейная | Множественные | Есть |
| 78 | 19 | Спорадическая | Множественные | Есть |

характеризующееся повторными кровоизлияниями, ростом и новообразованием каверном.

Приводим краткие описания течения болезни.

**Образец 61**, табл.1 и 2, рис. 4. За 5 лет с момента начала заболевания (в возрасте 33 лет) больная с первично множественными КМ головного мозга перенесла не менее 4 кровоизлияний из каверномы среднего мозга. За период наблюдения сформировались две новые каверномы, одна из которых проявилась тяжелым кровоизлиянием с формированием большой гематомы. Все кровоизлияния приводили к появлению и нарастанию как очаговой, так и общемозговой симптоматики. До последнего ухудшения состояние больной оставалось компенсированным, и лишь последнее кровоизлияние привело к инвалидности.

*Семейный анамнез*: отец с молодого возраста страдал паркинсонизмом. Более детальной информации нет. Дочь больной, 2007 г.р., здорова, от предложенного МРТ-обследования и взятия крови для генетического исследования родители отказались.

**Образец 39**, табл. 1 и 2, рис. 5. В возрасте 49 лет остро развилась клиника поражения спинного мозга на нижнегрудном уровне, которая затем в значительной степени регрессировала. В возрасте 61 года появилось нарушение зрения в виде неполной правосторонней гомонимной гемианосии. При МРТ головы и позвоночника выявлены множественные КМ головного мозга и КМ на нижнегрудном уровне спинного мозга.

*Семейный анамнез*: отец с молодого возраста страдал дженксоновской эпилепсией. У сына артериальная гипертония с 25-летнего возраста.

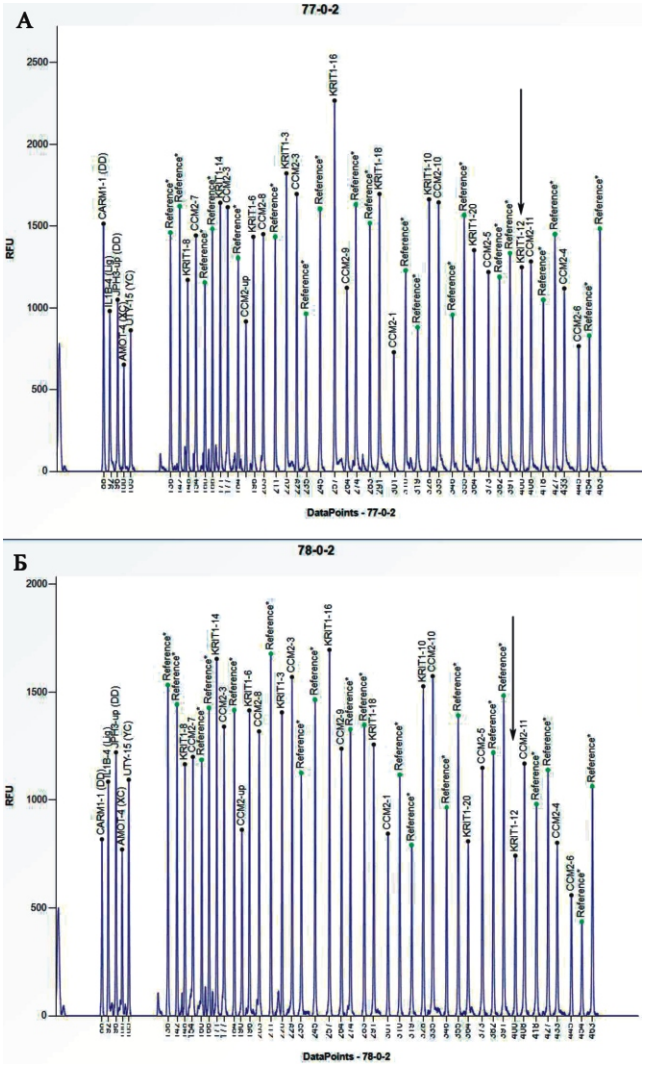


**Рис. 1.** Хроматограммы из MLPA-анализа, демонстрирующие делецию экзона 12 гена *CCM1* (*KRIT1*): А — контрольный образец; Б — образец с делетированным экзоном 12. (отмечен стрелкой).

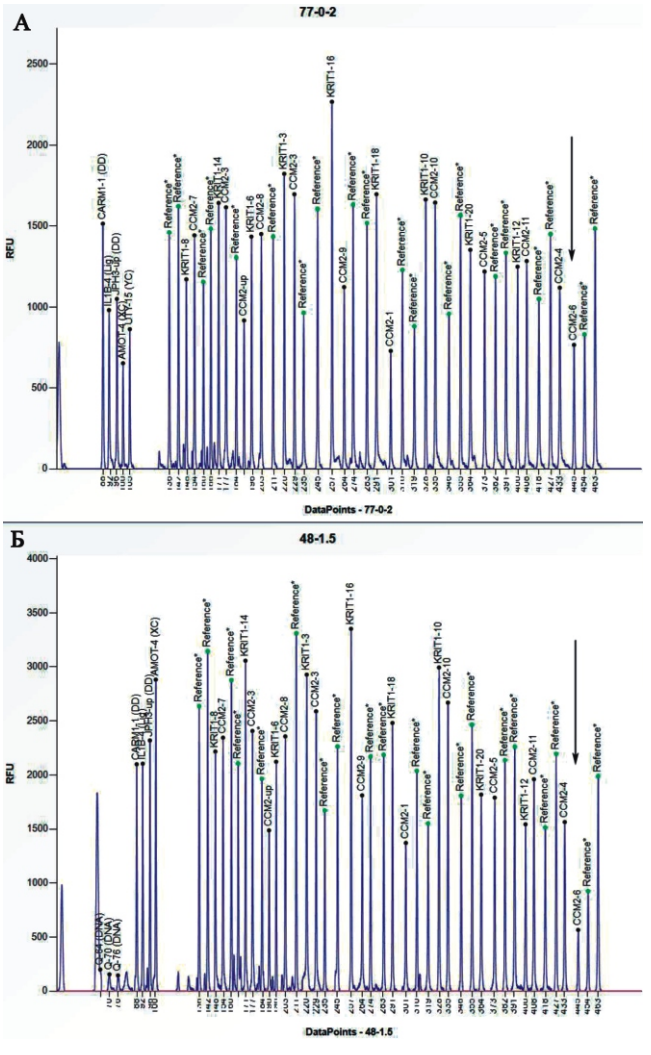


**Рис. 2.** Хроматограммы из MLPA-анализа, демонстрирующие делецию экзона 6 гена *CCM2* (*MGC4607*): А — контрольный образец; Б — образец с делетированным экзоном 6 (отмечен стрелкой).

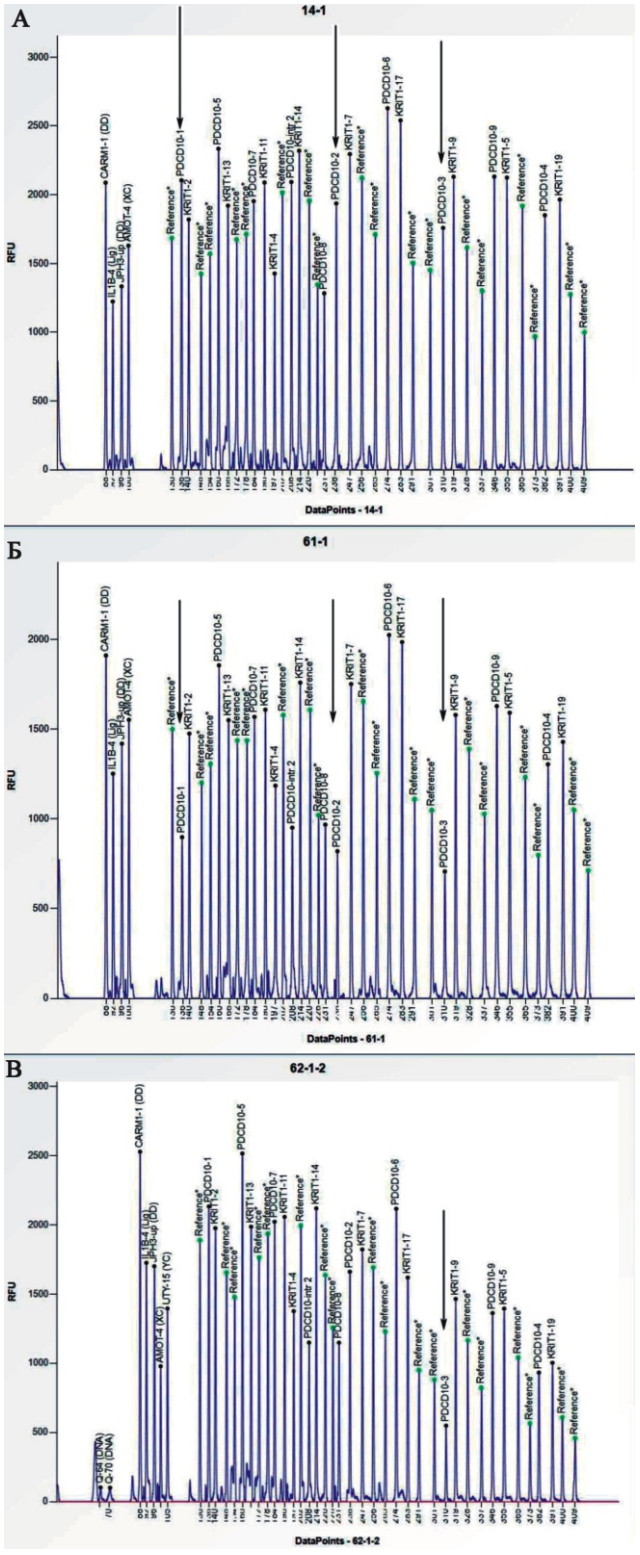


**Рис. 3.** Хроматограммы из MLPA-анализа, демонстрирующие делецию экзонов 1–3 и 3 гена *CCM3* (*PDCD10*): А — контрольный образец; Б — образец с делетированными экзонами 1–3 (отмечены стрелками); В — образец с делетированным экзоном 3 (отмечен стрелкой).

**Образец 62**, табл. 1 и 2, рис. 6. Мальчик с рождения наблюдался с диагнозом «гидроцефальный синдром». В возрасте 4 лет при КТ головы выявлены множественные объемные образования мозга, оставлен под наблюдением. В 5 лет — повторные эпизоды интенсивной головной боли, нарушение ходьбы. При МРТ выявлена КМ мозолистого тела и большая внутрижелудочковая гематома, а также еще 2 КМ: лобной доли справа и височной доли слева. Оперирован, КМ мозолистого тела и гематома удалены. В возрасте 8 лет выявлены признаки кровоизлияния из кавернозной височной доли, которая также удалена.

*Семейный анамнез*: единокровный брат с рождения имел низкое зрение на оба глаза, офтальмологом выявлены признаки атрофии зрительных нервов. При скрининговом обследовании в возрасте 5 лет на МРТ выявлена КМ хиазмы и множественные мелкие КМ больших полушарий мозга. У отца мальчиков при МРТ, выпол-

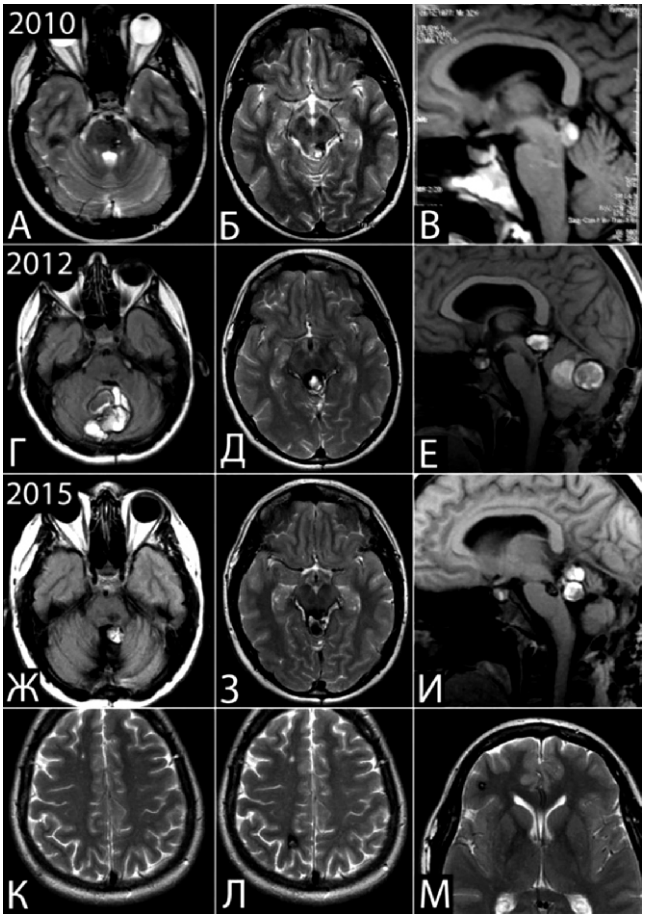


**Рис. 4.** К образцу 61. Множественные кавернозные головного мозга с повторными кровоизлияниями. Описание в тексте.
А, Б, В — первое МРТ при появлении симптомов, 2010 г. Г, Д, Е — МРТ перед удалением каверном и гематом ствола и мозжечка, 2012 г. Ж, З, И — МРТ перед последней операцией по удалению кавернозной ствола и верхних ножек мозжечка, 2015 г. К, Л — новообразование кавернозной правой теменной доли, 2012 г. М — кавернозная лобной доли.

ненном по поводу жалоб неопределенного характера, выявлены множественные КМ больших полушарий и ствола мозга.

## Обсуждение

Молекулярно-генетические методы исследования все больше входят в практику диагностики различных заболеваний, т.к. позволяют выявлять генетические изменения не только у людей с уже проявившимися заболеваниями, но и у тех, для которых пока только существует риск их развития. Использованный в данной работе метод MLPA уже достаточно широко применяется для поиска крупных делеций/вставок при диагностике целого ряда заболеваний [16, 17, 18], включая и КМ ЦНС, и считается одним из наиболее предпочтительных для выявления крупных мутаций в генах. Этот метод использовался для анализа распространения таких мутаций среди больных с КМ в испанской и североамериканской популяциях [8, 10].

Анализ нашей выборки выявил крупные мутации в генах *CCM* у 10 больных из 92 обследованных, что составило примерно 11%. Количество таких мутаций, по данным литературы, варьирует от 3 до 24% [8, 10]. При этом соотношение мутаций в генах *CCM1, CCM2* и *CCM3* составило 40%, 30% и 30% соответственно, т.е. в исследованной нами выборке пациентов доля мутаций в двух последних генах оказалась достаточно высокой. В различных работах приводятся данные по распространенности мутаций в трех генах *CCM*, однако везде отмечается преобладание мутаций в гене *CCM1*, в то время как данные по двум другим генам сильно варьируют. Следует отметить, что у всех индивидов с выявленными мутациями, включая мутации *de novo*, заболевание проявилось клинически, либо в виде внутричерепных кровоизлияний, которые в большинстве случаев были повторными, либо в виде эпилептических припадков, а здоровых носителей в исследованной группе не было. Тем не менее, при определении «биологической активности» каверном использовались достаточно условные критерии [20]. Необходимо подчеркнуть также условность выделения спорадических и условно семейных форм, так как оно чаще всего вынужденное и опирается только на клинические данные. Это, как правило, связано с отказом «здоровых» родственников от проведения МРТ и взятия крови, либо с отсутствием связи с родственниками, что не позволяет выявлять индивидов с бессимптомными КМ.

Наиболее тяжелые формы заболевания многие исследователи связывают с мутациями, расположенными в гене *CCM3*. Для таких больных характерно более раннее начало болезни, повторные кровоизлияния, которые могут происходить последовательно из КМ разной локализации [20, 21]. До сих пор в литературе не описывались крупные мутации в этом гене. Нами такие мутации были обнаружены у трех неродственных больных — две делеции в гене *CCM3*. Во всех случаях подтверждено более тяжелое клиническое течение заболевания в виде повторных кровоизлияний, потребовавших оперативного лечения, а также новообразования и роста каверном. В отношении возраста манифестации в этих случаях делать какие-либо выводы сложно, тем не менее, необходимо отметить, что в одной из семей заболевание у двух братьев проявилось до 5-летнего возраста.

Таким образом, MLPA анализ образцов ДНК пациентов с КМ ЦНС в российской выборке позволил выявить крупные перестройки во всех трех генах *CCM*, включая *CCM3*. Проведенный анализ показал относительно высокую частоту таких мутаций: из 92 проанализированных образцов мутации найдены в 10 случаях.

## Заключение

Настоящее исследование — первая в России работа по изучению крупных мутаций в генах КМ ЦНС. Она выполнена в относительно большой группе больных с различными формами каверном. Из семи выявленных крупных мутаций в генах *CCM* четыре ранее не были описаны. Выявлены две делеции в гене *CCM3 [PDCD10],* в котором подобные мутации до настоящего времени не были описаны. Полученные данные позво-

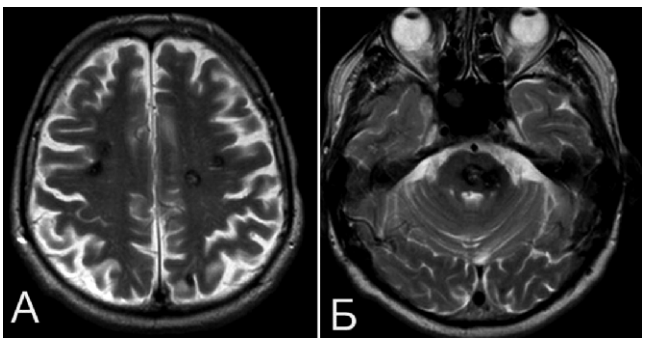


**Рис. 5.** К образцу 39. Множественные каверномы головного мозга. Описание в тексте.
А, Б — МРТ головного мозга.

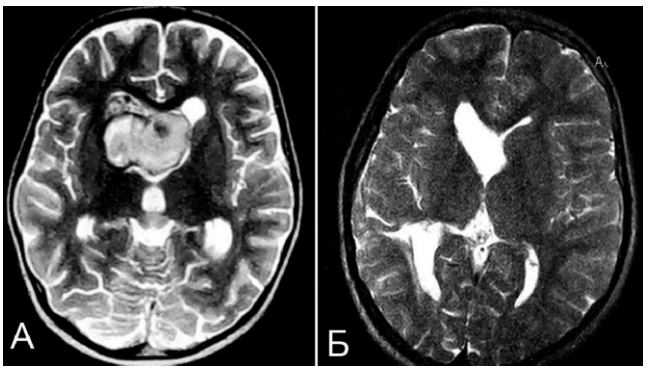


**Рис. 6.** К образцу 62. МРТ до и после удаления каверномы и гематомы мозолистого тела. Описание в тексте.
А — МРТ головного мозга до операции. Б — МРТ головного мозга после операции.

ляют проводить медико-генетическое консультирование семей с наследственными каверномами ЦНС.

Дальнейшее изучение типов мутаций в генах *CCM*, сопровождаемое клиническими исследованиями, позволит создавать более простые и дешевые диагностические тест-системы с целью прогнозирования развития церебральных каверном у конкретных людей.

### Список литературы


1. Hayman LA, Evans RA, Ferrell RE, Fahr LM, Ostrow P, Riccardi VM. Familial cavernous angiomas: natural history and genetic study over a 5-year period. Am J Med Genet. 1982 Feb;11(2):147-60. doi: https://doi.org/10.1002/ajmg.1320110205

2. Bicknell JM, Carlow TJ, Kornfeld M, Stovring J, Turner P. Familial cavernous angiomas. Arch Neurol. 1978 Nov;35(11):746-9. doi: https://doi.org/10.1001/archneur.1978.00500350050010

3. Sahoo T, Johnson EW, Thomas JW, Kuehl PM, Jones TL, Dokken CG, Touchman JW, Gallione CJ, Lee-Lin SQ, Kosofsky B, Kurth JH, Louis DN, Mettler G, Morrison L, Gil-Nagel A, Rich SS, Zabramski JM, Boguski MS, Green ED, Marchuk DA. Mutations in the gene encoding KRIT1, a Krev-1/rap1a binding protein, cause cerebral cavernous malformations (CCM1). Hum Mol Genet. 1999 Nov;8(12):2325-33. doi: https://doi.org/10.1093/hmg/8.12.2325

4. Liquori CL, Berg MJ, Siegel AM, Huang E, Zawistowski JS, Stoffer T, Verlaan D, Balogun F, Hughes L, Leedom TP, Plummer NW, Cannella M, Maglione V, Squitieri F, Johnson EW, Rouleau GA, Ptacek L, Marchuk DA. Mutations in a gene encoding a novel protein containing a phosphotyrosine-binding domain cause type 2 cerebral cavernous malformations. Am J Hum Genet. 2003 Dec;73(6):1459-64. Epub 2003 Nov 17. doi: https://doi.org/10.1086/380314

5. Denier C, Goutagny S, Labauge P, Krivosic V, Arnoult M, Cousin A, Benabid AL, Comoy J, Frerebeau P, Gilbert B, Houtteville JP, Jan M, Lapierre F, Loiseau H, Menei P, Mercier P, Moreau JJ, Nivelon-Chevallier A, Parker F, Redondo AM, Scarabin JM, Tremoulet M, Zerah M, Maciazek J, Tournier-Lasserve E; Societe Francaise de Neurochirurgie. Mutations within the MGC4607 gene cause cerebral cavernous malformations. Am J Hum Genet. 2004 Feb;74(2):326-37. Epub 2004 Jan 22. doi: https://doi.org/10.1086/381718

6. Bergametti F, Denier C, Labauge P, Arnoult M, Boetto S, Clanet M, Coubes P, Echenne B, Ibrahim R, Irthum B, Jacquet G, Lonjon M, Moreau JJ, Neau JP, Parker F, Tremoulet M, Tournier-Lasserve E; Societe Francaise de Neurochirurgie. Mutations within the programmed cell death 10 gene cause cerebral cavernous malformations. Am J Hum Genet. 2005 Jan;76(1):42-51. Epub 2004 Nov 12. doi: https://doi.org/10.1086/426952

7. Penco S, Ratti R, Bianchi E, Citterio A, Patrosso MC, Marocchi A, Tassi L, La Camera A, Collice M. Molecular screening test in familial forms of cerebral cavernous malformation: the impact of the Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification approach. Neurosurg. 2009 May;110(5):929-34. doi: https://doi.org/10.3171/2008.8.17640.

8. Liquori CL, Berg MJ, Squitieri F, Leedom TP, Ptacek L, Johnson EW, Marchuk DA. Deletions in CCM2 are common cause of cerebral cavernous malformations. Am J Hum Genet. 2007 Jan;80(1):69-75. Epub 2006 Nov 14. doi: https://doi.org/10.1086/510439

9. D'Angelo R1, Marini V, Rinaldi C, Origone P, Dorcaratto A, Avolio M, Goitre L, Forni M, Capra V, Alafaci C, Mareni C, Garre C, Bramanti P, Sidoti A, Retta SF, Amato A. Mutation analysis of CCM1, CCM2 and CCM3 genes in a cohort of Italian patients with cerebral cavernous malformation. Brain Pathol. 2011 Mar;21(2):215-24. Epub 2010 Oct 4. doi: https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2010.00441.x

10. Mondjar R., Solano F., Rubio R., Delgado M., Perez-Sempere A., Gonzalez-Meneses A., Vendrell T., Izquierdo G., Martinez-Mir A., Lucas M. Mutation Prevalence of Cerebral Cavernous Malformation Genes in Spanish Patients. PloS one 2014, 9; e86286. PLoS One. 2014 Jan 23;9(1):e86286. eCollection 2014. doi: https://10.1371/journal.pone.0086286

11. Боринская СА, Хуснутдинова ЭК. Этногеномика: история с географией. Человек. 2002; 1:19-30.

12. Лимборская СА, Хуснутдинова ЭК, Балановская ЕВ. Этногеномика и геногеография народов Восточной Европы. М.: Наука, 2002.

13. Maiuri F, Cappabianca P, Gangemi M, De Caro Mdel B, Esposito F, Pettinato G, de Divitiis O, Mignogna C, Strazzullo V, de Divitiis E. Clinical progression and familial occurrence of cerebral cavernous angiomas: the role of angiogenic and growth factors. Neurosurg Focus. 2006 Jul15;21(1):e3. doi: http://dx.doi.org/10.3171/foc.2006.21.1.4

14. Gaetzner S, Stahl S, Surucu O, Schaafhausen A, Halliger-Keller B, Bertalanffy H, Sure U, Felbor U. CCM1 gene deletion identified by MLPA in cerebral cavernous malformation. Neurosurg Rev. 2007 Apr;30(2):155-9; discussion 159-60. Epub 2006 Dec 23. doi: https://doi.org/10.1007/s10143-006-0057-1

15. Felbor U, Gaetzner S, Verlaan DJ, Vijzelaar R, Rouleau GA, Siegel AM. Large germline deletions and duplication in isolated cerebral cavernous malformation patients. Neurogenetics. 2007 Apr;8(2):149-53. Epub 2007 Jan 9. doi: https://doi.org/10.1007/s10048-006-0076-7

16. Мационис АЭ, Петров АВ, Горелик МЗ, Завалишина ЛЭ. Исследование численных нарушений генов при раке молочной железы методом мультиплексной лигазозависимой амплификации зондов. Архив патологии. 2014;76(4):15-17.

17. Гусина АА, Мясников СО, Гусина НБ. Метод мультиплексной амплификации лигированных зондов в диагностике синдрома Марфана. Медицинская генетика. 2018; 17 (4): 37-41. doi: https://doi.org/10.25557/2073-7998.2018.04.37-41

18. Lai KK, Lo IF, Tong TM, Cheng LY, Lam ST. Detecting exon deletions and duplications of the DMD gene using Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA). Clin Biochem. 2006 Apr;39(4):367-72. Epub 2006 Jan 17. doi: https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2005.11.019

19. Denier C, Labauge P, Bergametti F, Marchelli F, Riant F, Arnoult M, Maciazek J, Vicaut E, Brunereau L, Tournier-Lasserve E; Societe Francaise de Neurochirurgie. Genotype-phenotype correlations in cerebral cavernous malformations patients. Ann Neurol. 2006 Nov;60(5):550-6. doi: https://doi.org/10.1002/ana.20947

20. Maiuri F, Cappabianca P, Gangemi M, De Caro Mdel B, Esposito F, Pettinato G, de Divitiis O, Mignogna C, Strazzullo V, de Divitiis E. Clinical progression and familial occurrence of cerebral cavernous angiomas: the role of angiogenic and growth factors. Neurosurg Focus. 2006 Jul 15;21(1):e3. doi: https://doi.org/10.3171/foc.2006.21.1.4

21. Nikoubashman O, Wiesmann M, Tournier-Lasserve E, Mankad K, Bourgeois M, Brunelle F, Sainte-Rose C, Wiesmann M, Zerah M, Di Rocco F. Natural history of cerebral dot-like cavernomas. Clin Radiol. 2013 Aug;68(8):e453-9. Epub 2013 May 8. doi: https://doi.org/10.1016/j.crad.2013.02.010