

Материалы VII Съезда
Российского общества медицинских генетиков,
Санкт-Петербург, 19—23 мая 2015 г.
и материалы 3-й Всероссийской конференции
с международным участием
«Генетика опухолей кроветворной системы»,
Санкт-Петербург, 19—20 мая 2015 г.

**Этика и целеполагание семьи
как основа для возникновения
генетической нестабильности у ребёнка**

*Ингель Ф.И.¹, Кривцова Е.К.¹, Юрцева Н.А.¹,
Легостаева Т.Б.², Анциферов Б.М.³*

¹ ФГБУ «НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды
им. А.Н. Сысина МЗ РФ

² Магнитогорский государственный университет

Задача выявления источников генетической нестабильности человека остаётся до конца нерешённой. Поскольку геном ребёнка чувствительнее, чем взрослых (Neri et al., 2005), а генетическая нестабильность у детей обуславливает развитие во взрослом состоянии многих болезней, включая рак (Bonassi, 2004), необходимо проследить основные источники генетической нестабильности ребёнка и её модифицирующие факторы. Известно, что состояние неадаптивного стресса связано с повышением чувствительности генома к факторам среды. (Ингель и др., 1997—2013; Dimitroglou et al., 2003). Поэтому для обследования выбирали семьи с практически здоровыми детьми, находившимися в состоянии психологического комфорта.

Целью работы являлся анализ влияния психологических, социальных и экономических факторов семьи и жизни учителя на показатели нестабильности и чувствительности генома практически здоровых детей старшего дошкольного и младшего школьного возраста.

Обследованы семьи с детьми из двух промышленных городов России — Магнитогорска (166 семей) и Коряжмы (120 семей; в городе расположен крупнейший в Европе Целлюлозно-бумажный комбинат). Показатели нестабильности генома детей определяли на культуре периферической крови в микроядерном тесте с цитохалазином В (Fenech et al., 2003; Ингель, 2006). В тесте Люшера изучали уровень тревоги детей, психологический статус и качество жизни их родителей, а также социо-экономический статус семьи. На проведение работы были получены разрешения главных педиатров городов и информированное согласие родителей.

Уровни нестабильности генома детей не зависели от удалённости детских садов от металлургического комбината. Обследованные семьи не различались по уровню душевого дохода, качеству жилья и жилой площади на 1 человека, курению и употреблению алкоголя родителями, а также по уровню тревоги детей и большинству изученных психологических показателей родителей. Степень тревоги детей со коррелировала с частотой делящихся клеток с повреждениями, размером пролиферативного пула, долей ускоренно делящихся клеток среди

делящихся и индексом репликации ядер в культурах крови, доказывая установленную ранее связь между степенью выраженности стресса и уровнем нестабильности генома. С другой стороны, степень тревоги ребёнка коррелировала со степенью переутомления отца, эмоциональным напряжением матери, её зависимостью от социального окружения и другими показателями эмоционального климата семьи — показателями, которые коррелировали с нестабильностью генома детей. Между районами Магнитогорска были обнаружены различия в социальном укладе и стиле жизни, которые также были связаны с показателями нестабильности генома детей. С социальными особенностями и психологическим климатом семьи коррелировали биохимические показатели организма ребёнка, отражающие его защитно-приспособительные реакции.

Обнаружение подобных связей накладывает дополнительную ответственность за создание психологического комфорта и, следовательно, за сохранение здоровья детей не только на их родителей, но и, видимо, на всех взрослых, занятых в сфере воспитания и образования.

Приблизиться к решению этой проблемы можно при принятии новой парадигмы воспитания, направленной на создание и поддержание состояния психологического комфорта у детей дома и в образовательных учреждениях всех уровней.

**Комплексный подход к молекулярной диагностике
митохондриальной патологии**

*Иткис Ю.С.¹, Цыганкова П.Г.¹, Крылова Т.Д.¹,
Михайлова С.В.², Захарова Е.Ю.¹*

¹ ФГБНУ «МГНЦ», Москва, ул.Москворечье, д.1
yulya.itkis@gmail.com

² ФГБУ «РДКБ» Минздрава России,
Москва, Ленинский пр-т, 117

Митохондриальные заболевания — гетерогенная группа редких наследственных заболеваний, вызванная нарушениями в дыхательной цепи митохондрий, что обусловлено мутациями в ядерном и митохондриальном геномах. Такое «двойное кодирование» объясняет трудность молекулярной диагностики митохондриальных патологий. В совокупности это довольно распространённая группа наследственных болезней обмена веществ, и поиск эффективных методов диагностики весьма актуален. В лаборатории НБО ФГБНУ «МГНЦ» накоплен многолетний опыт молекулярной диагностики митохондриальных болезней, где на сегодняшний день, основываясь на клинической картине пациента, первично методом MLPA проводится поиск 12 мутаций мтДНК (частые мутации m.3243A>G (MELAS); m.8344A>G (MERRF); m.3460G>A, m.11778G>A,

m.14484T>C (LHON); m.8993T>G/C (NARP); и более редкие m.3697G>A, m.8363G>A, m.13094T>C, m.13513G>A, m.14459G>A, m.10197G>A) и в яДНК (частые мутации в генах *SURF1*, *POLG*). Данный подход является дешевым, простым и надежным методом первичного ДНК-скрининга на митохондриальные болезни. Выбор частых мутаций в панелях для MLPA был сделан на основании собственных исследований и литературных данных. При отсутствии частых мутаций пациенту назначается анализ всей последовательности мтДНК. Данное исследование проводится на генетическом анализаторе нового поколения Ion Torrent. Также секвенированием по Сенгеру проводится анализ отдельных ядерных генов, которые наиболее соответствуют клинической картине пациента. В лаборатории разработана диагностическая панель для анализа методом секвенирования нового поколения на приборе Ion Torrent сразу 62 основных ядерных митохондриальных генов, обеспечивающих функциональную активность комплекса дыхательной цепи митохондрий (кодирующие белки-сборщики и сами субъединицы КДЦМ, и пр.). Этот подход позволяет значительно удешевить анализ, а также ускорить и улучшить диагностику митохондриальных патологий.

Клинический случай кольцевой Y-хромосомы, сопровождающийся микроделецией локусов AZF-A,B,C

Кадилова И.С., Донников М.Ю., Михна И.Н., Сичинава Е.П., Новикова М.В., Попова Е.А., Овсянникова С.Г., Зубайдуллина С.Р., Колбасин Л.Н.

БУ ХМАО-Югры «Окружной кардиологический диспансер «Центр диагностики и сердечно-сосудистой хирургии», Медико-генетическая консультация, г. Сургут, ул. Ленина, 69/1, mgk@okd.ru

У пациентов с нарушением полового развития в 20% обнаруживаются хромосомные аномалии. Пробанд мужского пола, 2013 г.р., был направлен к врачу-генетику перед хирургическим лечением с жалобами на деформацию полового члена и задержку физического развития. Ребёнок от I беременности, протекавшей на фоне синдрома задержки внутриутробного развития. Роды I, срочные в 40 нед. При рождении вес 2350 г, длина 47 см. Состояние при рождении удовлетворительное. На момент осмотра врачом-генетиком в 10 мес. антропометрические данные: масса тела — 8100 г, рост — 68 см, окружность головы — 45 см. При осмотре половых органов: гипоспадия, деформация полового члена, наружное отверстие открывается у корня мошонки. По результатам УЗИ: органы малого таза без видимой патологии (матка и яичники не визуализируются), область мочевого пузыря без патологии. Результаты лабораторного обследования: кариотип: mos 45,X[10]/46,X,r(Y)[20]. Выявлен мозаичный кариотип из двух клонов, один 45,X в 10 метафазах, второй с кольцевой Y-хромосомой в 20 метафазах. При молекулярно-цитогенетическом исследовании (FISH) с использованием зонда на полное окрашивание Y-хромосомы 'XCP Y FITC', Vysis, доказано, что обнаруженная кольцевая хромосома является производной Y-хромосомы. При проведении молекулярно-генетического исследования Y хромосомы обнаружено присутствие Y-специфичных маркёров (гены *SRY*, *ZFY*) и полное отсутствие локусов AZF-A,B,C, что согласуется с результатами стандартного кариотипирования и FISH. Заключительный диагноз: гипоспадия члено-мошоночная. Хромосомная патология, мозаицизм моносомии X и кольцевой Y-хромосомы, Y-специфичный маркёр (ген *SRY*) обнаружен, микроделеции локуса AZF-A,B,C в Y-хромосоме.

Пациенту была рекомендована плановая оперативная коррекция наружных половых органов в рамках мужского пола.

Клинические и молекулярно-генетические характеристики наследственной спастической параплегии 3-го типа (SPG3)

Кадникова В.А.¹, Степанова А.А.¹, Руденская Г.Е.¹, Биц К. (Beetz С.)², Проскокова Т.Н.³, Федотов В.П.⁴, Поляков А.В.¹

¹ ФГБНУ Медико-генетический научный центр (МГНЦ), Москва, info@dnalab.ru

² Клиника Йенского университета, Германия

³ Дальневосточный государственный медицинский университет, Хабаровск

⁴ Воронежская межрегиональная МГК

Группа наследственных спастических параплегий (НСП) генетически гетерогенна: насчитывается более 70 форм с известными генами и разной долей в структуре. К относительно частым относится НСП 3-го типа (SPG3) — аутосомно-доминантная форма, связанная с геном атластина *ATL1*. Типичны раннее начало, медленное течение, отсутствие других симптомов («неосложнённая» НСП), хотя возможны и сопутствующие признаки, и позднее начало. Ряд мутаций *ATL1* описан неоднократно, но частых нет, что наряду с размерами гена удорожает ДНК-диагностику; преобладают миссенс-мутации, описаны крупные делеции и др. Мы диагностировали SPG3 методом прямого секвенирования *ATL1* в 6 семьях. Два случая выявлены в сотрудничестве с немецкими коллегами. В живущей на Дальнем Востоке и в Сибири семье с 14 больными и семье из Воронежа с пятью больными найдена известная мутация p.Arg415Trp, анализ гаплогипов подтвердил её независимое происхождение. Верифицированы 4 семейных случая с ранее описанными мутациями p.Arg495Trp (в двух семьях — русской и татарской), p.Val253Ile и p.Arg239Cys. В обеих семьях с мутацией p.Arg495Trp отмечена неполная пенетрантность, характерная для SPG3. Во всех случаях болезнь началась в детстве (наибольший возраст начала — 12 лет); двое очень рано заболевших родителей до проявления болезни у детей имели диагноз спастической формы ДЦП; одна больная до 11 лет наблюдалась с диагнозом «косопалость», несмотря на семейный анамнез. Старшие больные ходили самостоятельно до 6-го десятилетия, некоторые не обращались к врачам. В пяти семьях НСП была «неосложнённой». В семье со сниженным интеллектом у больных братьев и дяди по линии матери предположено независимое сочетание SPG3 и X-сл. умственной отсталости. Семьи по-разному решали вопросы деторождения: две беременные на момент обследования сестры — больная и бессимптомная носительница мутации — воздержались от дородовой ДНК-диагностики, две семьи планируют деторождение с дородовой/доимплантационной ДНК-диагностикой.

Эпидемиология моногенной наследственной патологии среди детского населения Усть-Джегутинского района Карачаево-Черкесской Республики

Кадышев В.В.¹, Зинченко Р.А.^{1,2}, Шакманов М.М.³, Васильева Т.А.¹, Ельчинова Г.И.¹, Петрова Н.В.¹, Петрин А.Н.^{2,3}, Гинтер Е.К.^{1,5}

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», 15478, Москва, ул. Москворечье, д. 1, e-mail: vila2003@mail.ru

² ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» МЗРФ, 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1

³ Муниципальное бюджетное ЛПУ «Усть-Джегутинская центральная районная больница»,

г. Усть-Джегута, 369300, ул. Морозова, д. 8б

⁴ ФГУЗ «Научно-практический центр медицинской помощи детям ДЗМ», 119620, Москва, ул. Авиаторов, д. 38

⁵ ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» МЗРФ, Москва, 127473, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

⁶ ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» МЗРФ, 125993, Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1

По данным ВОЗ примерная частота врожденной моногенной наследственной патологии (МНП) составляет 5—10 на 1000 новорожденных. К концу пубертатного периода манифестирует практически 90% МНП, однако первые признаки заболевания в большинстве случаев оказываются недооцененными. Проведено генетико-эпидемиологическое исследование населения Усть-Джегутинского района Карачаево-Черкесской Республики (КЧР) в соответствии с протоколом, разработанным в ФГБНУ «МГНЦ». Численность обследованного населения составила 44334, из которых 25,88% составили дети (11 473 детей, в том числе 3000 в сельском населении и 8473 в г.Усть-Джегута). В общей сложности среди детей выявлено 45 нозологических форм МНП. AP патология представлена 17 нозологиями, среди которых самыми частыми оказались фенилкетонурия 1:819 детей, муковисцидоз 1:2878, олигофрения 1:2294, врожденный гипотиреоз 1:2294, несиндромальная тугоухость 1:2878, врожденная нечувствительность к боли с ангидрозом 1:5730. Среди 25 заболеваний с АД типом наследования частыми были 5 нозологий: синдром Элерса—Данло 1:1043, врожденная катаракта 1:1147, наследственная мотосенсорная нейропатия 1:2878, ихтиоз 1:3824, поликистоз почек 1:5730. X-сц. патология представлена 3 заболеваниями: олигофрения 1:956, гемофилия А 1:5730 и синдром Коффин—Лоури 1:5730. Остальные заболевания выявлены в единичных случаях. Суммарная распространенность МНП среди детского населения составила 1:105 детей. Груз АД МНП среди детей составил $3,66 \pm 0,66/1000$ в г.Усть-Джегута и $2,90 \pm 0,55/1000$ в сельской местности, AP — $7,00 \pm 1,52/1000$ и $9,33 \pm 1,76/1000$ соответственно в селе, X-сц. $0,71 \pm 0,41/1000$ мальчиков в городе и $2,67 \pm 1,33/1000$ на селе.

Работа выполнена при частичном финансировании грантов РФФИ 14-04-00525 и 15-04-01859

Опыт применения иматинибмезилата у детей с хроническим миелолейкозом (ХМЛ) в Узбекистане

Казакбаева Х.М., Салиев С.М.

Научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Министерства здравоохранения Республики Узбекистан

По данным Seth R. и Singh A., лейкемии у детей составляют 30—40% от всех видов злокачественных опухолей. Из них ХМЛ встречается реже, чем ОЛЛ и ОМЛ, однако проблема ХМЛ у детей является малоизученной. Во Франции имеется регистр детей с ХМЛ, принимающих Иматиниб, куда включен 81 чел., у которых отмечено замедление роста во время пубертатного периода.

Цель исследования: на основе регистра Узбекистана описать эпидемиологические характеристики и оценить клиническое течение ХМЛ у детей, получающих Иматиниб. Регистр детей с ХМЛ по программе GIPAP в Узбекистане состоит из 66 больных моложе 18 лет (включительно). В регистр включают больных после первичного выявления Ph+ ХМЛ по результатам молекулярно-генетических исследований, которые получают лечение с применением Иматиниба (Гливек) базисной дозой 100 мг в день. В научно-исследовательском институте гематологии и переливания крови Узбекистана (НИИ ГиПК МЗРУз) производятся Cohort исследования, куда внесены случаи ХМЛ у детей с 2005 г. по настоящее время. В данном исследовании

пациенты были распределены по полу, возрасту, стадиям ХМЛ и частым сопутствующим симптомокомплексам в ходе терапии Иматинибом.

В регистр включены 66 детей с ХМЛ (в хронической фазе — 34, в фазе акселерации — 26 и в стадии бластного криза — 6), мальчики — 36 чел., девочки — 30. Медиана возраста составила 11 (1—18) лет. Все пациенты принимали иматиниб с начальной дозой 100—200 мг в день в зависимости от возраста. Наиболее частыми сопутствующими симптомами у детей во время приема Иматиниба были тошнота (93%) и боли в костях (42%).

Расстройства желудочно-кишечного тракта предположительно обусловлены общими эпидемиологическими особенностями нашего региона или гастротоксичностью Иматиниба у детей. Рекомендовано продолжить исследования и мониторинг с антропометрическими, клиническими, молекулярными и цитогенетическими исследованиями. В следующих публикациях мы шире опишем результаты анализа побочных явлений, сопутствующих заболеваний и осложнений.

Случай острого миелоидного лейкоза с редкой t(11;19)(p13;q13) у пациента с фенотипическими признаками нейрофиброматоза

Казакова А.Н., Илюшина М.А., Панфёрова А.В., Матвеева Е.А., Шелихова Л.Н., Ольшанская Ю.В.

ФГБУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачёва Минздрава России, Москва, Россия

Пациент Р., 11 лет, поступил в стационар с жалобами на фебрильную лихорадку, носовые кровотечения, боли в ногах. В общем анализе крови: Нb — 94 г/л, L — $0,77 \times 10^9/л$ (бластные клетки 2%), Тг. — $6 \times 10^9/л$. У ребёнка отмечались особенности фенотипа, характерные для группы генетических синдромов:

- 1) множественные пятна на теле по типу «кофе с молоком» от 0,2 до 3 см, более 6 на фоне смуглой окраски кожи;
- 2) кистозное образование правой плечевой кости;
- 3) новообразования у преддверия носа, вероятнее всего, нейрофибромы;
- 4) гипертелоризм глаз, широкая переносица, эпикант;
- 5) отставание в физическом развитии;
- 6) гипоплазия левых отделов лица, асимметрия грудной клетки;
- 7) узелки Лиша на радужке глаз.

На основании фенотипа предположен диагноз нейрофиброматоза I типа. На основании данных морфологического и иммунологического исследований костного мозга и ликвора установлен диагноз: *острый миелобластный лейкоз, недифференцированный вариант, нейролейкоз ЦНС II.*

При кариотипировании, исследовании методами mBAND11 и MFISH (Metasystems, Inc.) клеток костного мозга 50% метафаз выявлен клон 46,XY,t(11;19)(p13;13). При исследовании методом FISH с ДНК-зондами Cytocell NF1 (17q11)/17pter, Kreatech ON NUP98, Vysis LSI p53/CEN17 выявлена только делеция гена NF1 в 50% ядер.

Исследование методом MLPA клеток костного мозга с использованием набора SALSA MLPAPO81NF1 (MCR-Holland, Голландия) выявило делецию экзона I и интрона I гена NF1.

Корреляция количества клеток несущих делецию гена NF1 с количеством бластов, определяемых при морфологическом и цитометрическом исследованиях клеток костного мозга на разных этапах терапии, позволила предположить, что делеция гена NF1 присутствует только в клетках лейкозного клона, либо имеет место редкая мозаичная форма нейрофиброматоза.

Средовые факторы как модуляторы ассоциации генов, участвующих в стрессе ЭПР, с чертами тревожного ряда

Казанцева А.В.¹, Канзафарова Р.Ф.², Тракс Т.³, Кокс С.³, Хуснутдинова Э.К.^{1,2}

¹ ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа, 450054, просп. Октября 71; e-mail: Kazantsa@mail.ru

² ФГБОУ высшего профессионального образования «Башкирский государственный университет», Уфа, 450074, ул. Заки Валиди 32

³ Institute of Biomedicine and Translational Medicine, University of Tartu, Tartu 50411, Estonia

Для успешной терапии многих заболеваний все большее значение играет индивидуальный психологический статус индивида, формирование которого обусловлено взаимодействием генетического и средового компонента. Наряду с изучением генов нейромедиаторных систем, интерес представляют гены, кодирующие белки, участвующие в стрессе ЭПР, поскольку было показано, что изменения нуклеотидной последовательности в этих генах ассоциированы с некоторыми психическими фенотипами. Цель данной работы заключается в оценке роли генов, вовлечённых в стресс ЭПР (*WFS1*, *ATF6*, *XBP1*), в развитии индивидуальных особенностей личности у здоровых индивидов 16—25 лет на основе ген-средовых взаимодействий.

В исследовании приняли участие 1018 психически здоровых индивидов из Республики Башкортостан и Удмуртской Республики (19,53 ± 2,24 года), из них русских — 409, татар — 290, башкир — 130 и удмуртов — 189 (68% женщин), прошедшие психологическое тестирование (ТСИ-125, EPI). Генотипирование 48 локусов и распознавание генотипов производилось на платформе SNPlex™ (Applied Biosystems). Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программ Haploview 4.1, PLINK. Для проверки на множественность сравнений была проведена процедура FDR.

Было обнаружено, что пренатальный уровень солнечной активности (оценивался по числу солнечных пятен согласно (Montag et al., 2014)) оказывал модулирующий эффект на выявление ассоциации между rs12045480 гена *ATF6* и вариациями по шкале «нейротизм» ($P_{FDR} = 0,044$; $r^2 = 0,078\%$). Кроме того, ассоциация rs4688978 в гене *WFS1* с «избеганием ущерба» — другой чертой тревожного ряда — была показана только в случае определённого места воспитания (городская/сельская местность) ($P_{FDR} = 0,041$; $r^2 = 0,021$). Выявленные модели GxE взаимодействий, ассоциированные с вариациями черт личности, свидетельствуют об эпигенетических изменениях, обусловленных действием средовых факторов, и могут носить предиктивный характер для риска развития аффективных расстройств и эффективности лечения.

Работа поддержана грантом РГНФ №13-06-00583а.

Популяционное исследование резистентности к лекарственным средствам в якутской этнической группе на примере гена *CYP2C19* (rs4244285, rs4986893)

Каймонов В.С., Алексеева Е.И., Максимова Н.Р.

Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Якутск

Дозировка препарата является одним из наиболее важных вопросов для обеспечения качественного, своевременного и эффективного лечения. Идеальной терапией является та, которая практикует индивидуальный подход к каждому пациенту (Зырянов С.К., 2015). Закономерности, выявляемые фармако-

генетикой, позволяют врачу индивидуально подходить к выбору как самих ЛС, так и их доз, обеспечивая максимальную эффективность и безопасную фармакотерапию.

Цель исследования: определить актуальность проведения фармакогенетического анализа на резистентность к ЛС в якутской этнической группе (ЯЭГ) на примере гена *CYP2C19*.

Исследование было проведено методом RT-PCR. В ходе исследования получены следующие данные: внутри якутской этнической группы в полиморфизме *CYP2C19**2 (rs4244285) встречаемость аллеля G (ancestral) составила 81%, аллеля A 19%. Были получены следующие генотипы G/G 67%; G/A 28%; A/A 5%; в полиморфизме *CYP2C19**3 (rs4986893) встречаемость аллеля G (ancestral) составила 97%, аллеля A 3%. Были получены следующие генотипы G/G 94%; G/A 6%; A/A 0%. В сравнении с данными по азиатской популяции (АП) в полиморфизме *CYP2C19**2 (rs4244285) наблюдается уменьшение встречаемости аллеля A (19% в ЯЭГ, 33,4% в азиатской популяции (АП)), а в сравнении с европейской популяцией (ЕП) — увеличение (19% в ЯЭГ, 14,8% в ЕП). В полиморфизме *CYP2C19**3 (rs4986893) наблюдается уменьшение встречаемости аллеля A (3% в ЯЭГ, 5,1% в АП), а в сравнении с ЕП — увеличение (3% в ЯЭГ, 0% в ЕП). Соотношение гомо- и гетерозигот в полиморфизме *CYP2C19**2 (rs4244285) составили G/G 67%; G/A 28%; A/A 5% в ЯЭГ, в сравнении с генотипами в АП G/G 39,9%; G/A 53,5%; A/A 6,6%, и ЕП G/G 72%; G/A 26,4%; A/A 1,6%. В полиморфизме *CYP2C19**3 (rs4986893) генотипы составили G/G 94%; G/A 6%; A/A 0% в ЯЭГ, в сравнении с генотипами в АП G/G 90,2%; G/A 9,4%; A/A 0,3%, и ЕП G/G 100%; G/A 0%; A/A 0%.

В связи с полученными данными проведение фармакогенетического анализа на резистентность к ЛС в данной этнической группе является актуальным.

Медико-генетическая помощь жителям Московской области на базе МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского в 2010—2014 гг.

Калиненко С.Г., Кузьмичева Н.А., Шестопалова Е.А., Бёме А.А., Коталевская Ю.Ю., Антоненко В.Г., Опарина Н.В., Сидорова О.П., Демикова Н.С., Асанов А.Ю.

ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», 129110, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2

E-mail: kalinenkova@monikiweb.ru

Основными направлениями работы медико-генетической лаборатории являются неонатальный скрининг, медико-генетическое консультирование и цитогенетическое обследование пациентов. Неонатальный скрининг проводится по 5 заболеваниям: фенилкетонурия (ФКУ), врождённый гипотиреоз, адреногенитальный синдром, муковисцидоз и галактоземия. Общее количество обследований новорождённых за 5 лет составило 395 919. Вызваны для проведения ретестов: на ФКУ — 519 детей, на врождённый гипотиреоз — 3339, на адреногенитальный синдром — 6413, на муковисцидоз — 4447, на галактоземию — 3605; выявлено: 70, 124, 60, 69, 17 больных соответственно. В качестве подтверждающей диагностики для муковисцидоза проведено 1454 потовые пробы. Информация о вызове на ретест передается районному педиатру по электронной почте, а при необходимости — по телефону районному педиатру и родителям ребёнка.

Цитогенетическое исследование проводится новорождённым, направленным из родильных домов и отделений патологии новорождённых Московской области, а также пациентам по назначению врача-генетика. За период 2010—2014 гг. проведено 3582 исследования, патология выявлена в 18% случаев, в том числе обнаружен 31 случай семейных структурных перестроек хромосом. Было обследовано 1123 новорождённых, у 390 из них подтвержден синдром Дауна. С 2013 г. начата мо-

лекулярно-цитогенетическая диагностика методом FISH. Всего проведено 313 исследований, патология обнаружена в 61 случае, в том числе выявлено 5 больных с синдромом делеции 22q11.2. За 5 лет также проведено 395 цитогенетических исследований костного мозга при заболеваниях крови.

Консультативная помощь оказывается пациентам, направленным из районных учреждений, обратившимся самотеком, а также семьям, в которых заболевание ребёнка было выявлено при цитогенетическом исследовании или в ходе неонатального скрининга. За период 2010—2014 гг. всего принято 14 426 пациентов, в том числе 4889 первичных. В настоящее время на диспансерном учёте состоит более 300 пациентов с ФКУ, лечение получает 161 из них. На учёте по поводу галактоземии состоит 10 пациентов, с мукополисахаридозами — 7, с адренолейкодистрофией — 4, с метахроматической лейкодистрофией и болезнью Нимана—Пика — по 1.

Молекулярно-генетический анализ генов *SMN* и *NAIP* при спинальной мышечной атрофии

Камалиева Б.О., Боровикова А.В.,
Назарова Л.К., Абилюдинова Г.Ж.

АО «Национальный научный центр материнства и детства»,
г. Астана, пр. Туран, 32
astana_genetic@mail.ru

Проксимальная спинальная мышечная атрофия (СМА) представляет собой аутосомно-рецессивное заболевание, характеризующееся повреждением и утратой α -мотонейронов передних рогов спинного мозга. Принято разделять три основных типа СМА, которые являются аллельными генетическими вариантами, обусловленных мутациями в гене *SMN*. Как известно, ген картирован на хромосоме 5 в локусе 5q12.2-q13.3 и имеет центромерную (*SMN2*) и теломерную копии (*SMN1*). Показано, что оба гена *SMN* расположены в области инвертированного повтора, в котором локализовано, по крайней мере, ещё три гена — *NAIP*, *SERF1A*, *GTF2H2*, также представленные теломерной и центромерной копиями.

Геномную ДНК экстрагировали с использованием коммерчески доступного набора в соответствии с протоколом производителя Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, USA). MLPA исследование для выявления мутаций в генах *SMN1*, *SMN2* и *NAIP* было проведено 75 пациентам из неродственных семей с подозрением на СМА. Диагноз подтверждён в 39 случаях, что составило 52%.

Результаты MLPA-анализа у пациентов СМА

Типы СМА	Количество выявленной патологии (n)	Del 7 эк. <i>SMN1</i> (%)	Del 7 эк. <i>SMN1</i> и увеличение числа копий <i>SMN2</i> (%)	Del 7 и 8 эк. <i>SMN1</i> (%)	Del 7 и 8 эк. <i>SMN1</i> и увеличение числа копий <i>SMN2</i> (%)	Del 7 эк. <i>SMN1</i> и <i>NAIP5</i> (%)
I тип	8	2 (25%)		4 (50%)		2 (25%)
II тип	18		6 (33%)	3 (17%)	9 (50%)	
III тип	13		4 (30%)	1 (8%)	8 (62%)	
Всего	39	2 (5%)	10 (25%)	8 (20%)	17 (45%)	2 (5%)

Более чем в 90% случаев классической СМА выявляется гомозиготная делеция 7-го и 8-го экзонов гена *SMN1*. Это соответствует данным большинства авторов и позволяет заключить, что в нашей стране данный тип мутации является ведущей причиной развития аутосомно-рецессивной СМА детского возраста.

Результаты молекулярного анализа генов *NLRP3*, *TNFRSF1A*, *MVK* при аутовоспалительных заболеваниях и системном ювенильном артрите

Каменец Е.А.¹, Малахова В.А.¹, Салугина С.О.²,
Федоров Е.С.², Каледа М.И.², Захарова Е.Ю.¹

¹ ФГБНУ МГНЦ, Москва, Россия

² ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой, Москва, Россия

Аутовоспалительные заболевания (АВЗ) человека — это гетерогенная группа редких генетических заболеваний, вызываемых первичной дисфункцией врождённого иммунитета. Ввиду общности клинических и лабораторных проявлений все чаще обсуждается вопрос о принадлежности к АВЗ системного варианта ювенильного артрита (сЮА). Известно более 25 генов, мутации в которых обуславливают развитие АВЗ, наиболее распространёнными и хорошо изученными из них являются *NLRP3*, *TNFRSF1A* и *MVK*.

Цели работы: определить вклад мутаций генов *NLRP3*, *TNFRSF1A* и *MVK* в этиологию АВЗ среди российских пациентов и установить наличие или отсутствие мутаций в данных генах у больных с диагнозом сЮА.

В исследование были включены 74 пациента. Из них 40 с подозрением на АВЗ и 39 с сЮА. Возраст больных в группе АВЗ составил 0,5—17 лет; в группе сЮА — 1,5—18 лет. Критериями отбора для обеих групп служили наличие персистирующей лихорадки, кожные высыпания (макуло-папулезные или по типу крапивницы), артралгии/артрит, острофазовые маркёры. Диагноз сЮА был установлен на основании критериев ILAR. Образцы ДНК экстрагировались из цельной крови. Кодирующая последовательность генов *NLRP3*, *TNFRSF1A* и *MVK* анализировалась методом прямого автоматического секвенирования.

В группе с подозрением на АВЗ выявлено 6 больных, гетерозиготных по мутациям в гене *NLRP3*: с.598G>A, с.1049C>T(x3), с.1313C>T и с.1327T>C, 2 — гетерозиготный по мутациям в гене *TNFRSF1A*: с.151C>T и с.295T>C (АД тип наследования), и 1 — компаунд-гетерозигота по мутациям с.1129G>A и с.1162C>T в *MVK* (АР тип наследования), всего 9 больных из 40 (22,5%). Среди пациентов с сЮА выявлено 2 гетерозиготных по мутациям с.1237C>T и с.1363G>T в гене *NLRP3*, 1 — гетерозиготный по мутации с.155C>G в *TNFRSF1A*, и 1 — компаунд-гетерозигота по мутациям с.613A>G и с.1126G>C в *MVK* (включая новую мутацию с.1126G>C), всего 4 пациента из 39 (10,3%).

В 22,5% случаев с подозрением на АВЗ установлены генетически подтверждённые диагнозы. Также мутации изучаемых генов обнаружены в 10,3% случаев при клиническом диагнозе сЮА, что свидетельствует о наличии АВЗ, пропущенных из-за схожей с сЮА симптоматики. Наши результаты показывают целесообразность скрининга на мутации *NLRP3*, *TNFRSF1A* и *MVK* для всех больных со сходными проявлениями, в особенности при недостаточном или необычном ответе на стандартную терапию сЮА.

Роль генов, участвующих в синаптической пластичности, в формировании математической тревожности

Канзафарова Р.Ф.¹, Казанцева А.В.², Ямангулова Н.Р.¹,
Кулбаева А.Р.¹, Фарахтдинова А.Р.¹, Хуснутдинова Э.К.^{1,2}

¹ ФГБОУПО «Башкирский государственный университет»,
Россия, Уфа, 450076, Заки Валиди 32;
e-mail: kanzafarova.renata@yandex.ru

² ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН,
Уфа, 450054, просп. Октября 71
e-mail: Kazantsa@mail.ru

Поскольку математика имеет огромное значение в современном мире, то изучение факторов, приводящих к возникновению трудностей в обучении математике, зачастую обуслов-

ленных математической тревожностью (МТ), играет важное значение. МТ — состояние, при котором индивиды испытывают отрицательные эмоции (избегание, тревожность, стресс) и болезненные ощущения при необходимости решения задач, требующих использования математических навыков. Белки, кодируемые генами нейрексина 1 (*NRXN1*) и контактин-ассоциированного белка (*CNTNAP2*), вовлечены в регуляцию синаптической пластичности, являющейся одним из механизмов формирования рабочей памяти, а значит, способности справиться со стрессовой ситуацией.

Цель данной работы заключается в оценке роли полиморфных вариантов генов *NRXN1* (*rs4971648*, *rs1045881*) и *CNTNAP2* (*rs2710102*) на уровне основного эффекта генов, а также эффекта межгенного и ген-средового взаимодействия в формировании МТ.

В исследовании приняли участие 520 психически здоровых индивидов (русских, татар, башкир, удмуртов) (75% женщин) — студентов ВУЗов г.Уфы (ср.возраст $20,3 \pm 3,87$ года), не имеющих по результатам опроса наследственной отягощённости по психическим заболеваниям, прошедшие оценку уровня МТ с помощью опросника MARS-E. Генотипирование проводили с помощью ПЦР-ПДРФ. Статистический анализ был осуществлен с использованием программы Plink v.1.07.

В результате линейного регрессионного анализа были обнаружены модели ген-средовых взаимодействий, которые ассоциированы с различиями в МТ. У носителей аллеля *rs1045881*А* гена *NRXN1* в группах лиц с плохим обращением в детстве и/или теми, кто не испытывает трудностей при общении с людьми, была обнаружена повышенная МТ ($p = 0,049$; $p = 0,038$). Ассоциации локуса *rs4971648* гена *NRXN1* и локуса *rs2710102* гена и *CNTNAP2* с вариациями в МТ обнаружено не было. Полученные данные свидетельствуют об участии гена нейрексина 1 в развитие МТ.

Данная работа поддержана грантом РГНФ 13-06-00583а и РГНФ 15-16-02007 а(р).

Новые методы диагностики наследственной патологии: проблемы и перспективы

**Канивец И.В.¹, Коростелев С.А.¹, Дадали Е.Л.¹,
Дюжев Ж.А.², Пьянков Д.В.¹,
Киевская Ю.К.², Барипова В.Д.²**

¹ ФГБУ «МГНЦ» РАМН, Москва, ул. Москворечье, 1
dr.kanivets@genomed.ru

² Лаборатория молекулярной патологии «Геномед», Москва, Подольское ш., 8 стр. 5

Появление новых методов анализа генома, таких как хромосомный микроматричный анализ и полноэкзомное секвенирование, с одной стороны, существенно повысило эффективность диагностики хромосомных синдромов и моногенных заболеваний, а с другой, обозначило ряд проблем, касающихся интерпретации полученных результатов. Большой объём информации, получаемый в результате этих исследований, требует от врача знаний о клинико-генетических характеристиках значительного числа наследственных заболеваний, позволяющих правильно интерпретировать полученные результаты. Отсутствие таких знаний является одной из причин, по которым, количество назначаемых врачами полногеномных исследований находится на достаточно низком уровне. Кроме того, многие клиницисты исключают микроделеционные синдромы из диагностического поиска, поскольку при многих из них не описаны специфические фенотипы. Определённое влияние оказывает выявление нормального кариотипа пациента при стандартном исследовании, на основании чего некоторыми специалистами может быть сделан вывод об исключении хромосомной патологии. Многие специалисты испытывают затруднения, когда после идентификации диагноза с помощью

клинико-фенотипического анализа они не могут определить, какое из исследований назначить в первую очередь, какой механизм (структурные перестройки хромосом или мутации) превалирует у пациентов с данным синдромом. Существенные затруднения у практикующих врачей возникают, также, при трактовке результатов экзомного секвенирования, что связано со значительным числом полиморфных вариантов генов, которые указываются в проведённом исследовании. Учитывая, что к настоящему времени в существующих базах данных описаны не все полиморфизмы генов и их поиск продолжается, определить патогенность выявленных однонуклеотидных замен можно только при проведении ряда дополнительных клинических и/или молекулярно-генетических исследований, как пробанду, так и его родителям. Для определения спектра таких исследований необходимо тесное сотрудничество врача, направившего больного на исследование, и клинического генетика.

Наиболее актуальными проблемами медицинской генетики на современном этапе является разработка алгоритмов диагностики различных групп наследственных заболеваний, в которые были бы включены современные методы исследования патологического генома и способов интерпретации полученных данных.

Молекулярно-цитогенетические исследования хронического миелолейкоза

**Каражанова М.К., Нурписова Д.З.,
Жолбаева К.Д., Булеганова М.Г.**

*Научный центр педиатрии и детской хирургии МЗ РК,
г.Алматы*

Хронический миелолейкоз (ХМЛ) относится к группе хронических миелолипролиферативных заболеваний опухолевой природы. По данным наших исследователей (Омарова К.О., Мустаева А.А. 2013 г.) частота выявления новых случаев ХМЛ составила 0,1 на 100 тыс. детского населения Казахстана. Основным маркёром заболевания, имеющим решающее значение в постановке диагноза и в выборе тактики дальнейшей терапии, является специфическая хромосомная транслокация t(9;22)(q34;q11), филадельфийская (Ph) хромосома. Новым этапом в лечении ХМЛ стало использование иматиниба (Гливек), являющегося препаратом строго направленного патогенетического действия.

В Научном центре педиатрии и детской хирургии МЗ РК под наблюдением находятся 124 пациента с диагнозом «хронический миелолейкоз», получающих терапию препаратами иматиниба, в возрасте от 3,5 до 68 лет (мужчин — 38, женщин — 59). Установление диагноза ХМЛ осуществлялось на основании данных клинической картины, характерных изменений в общих анализах крови и пунктатах костного мозга.

Стандартное цитогенетическое исследование клеток костного мозга проводилось всем пациентам до начала терапии, затем каждые 6 месяцев. На момент постановки диагноза у всех была выявлена Ph хромосома, дополнительные перестройки не выявлялись. Всем пациентам наряду со стандартным цитогенетическим исследованием проводится молекулярно-цитогенетическое исследование методом FISH.

В течение первого года от начала терапии было установлено наличие полного цитогенетического ответа 70 случаев (59,3%), частичный цитогенетический ответ получен у 37 (31,2%), отсутствие цитогенетического ответа 11 (9,3%).

По последним данным анализа эффективности лечения у 93 (66,6%) достигнут стойкий полный цитогенетический и полный молекулярный ответ, у 16 (14,8%) достигнут частичный цитогенетический ответ, у 15 (18,6%) отмечается резистентность и прогрессия заболевания.

В группе пациентов с резистентностью к лечению регистрировалось появление дополнительных хромосомных перестроек. Структурные перестройки были представлены в виде: изохромосомы 17 i(17), дополнительного материала на 9 хро-

мосоме add(9), робертсоновской транслокации t(13;14), делеции хромосом 2, 9, 17 del(2), del(9), del(17), транслокации t(1;3), t(X;1), t(17;18), инсерции в хромосоме 17 ins(17). Количественные перестройки были представлены дополнительной Ph хромосомой, трисомиями хромосом 3, 5, 9, 8, 14, 17, также моносомиями хромосом 7, 9, Y. Появление дополнительных перестроек в ходе лечения, ассоциируется с прогрессированием заболевания, переходом в стадию бластного криза и является прогностически неблагоприятным фактором.

Этнические аспекты наследственной тромбофилии у жителей Центрального и Северо-Кавказского федеральных округов России

Каралкин П.А., Беляков И.С., Паришина О.В., Сычев Д.А., Клейменова Е.Б., Назаренко Г.И.

Центр доказательной медицинской практики и инновационных технологий Медицинского центра Банка России.

117593, Москва, Севастопольский пр-т, 66
pkaralkin@gmail.com

Тромбоз глубоких вен и тромбоз эмболия легочной артерии являются серьёзными проблемами современного здравоохранения. В основе венозного тромбоза нередко лежат врождённые генетические дефекты компонентов плазменного звена гемостаза, объединяемые понятием «наследственная тромбофилия». Проведён анализ встречаемости наиболее значимых для развития венозных тромбозов полиморфных вариантов генов факторов свертывания проакцелерина *FV G1691A* («мутация Лейден») и протромбина *FII G20210A* в различных регионах РФ. В исследование были включены представители прикрепленного контингента региональных подразделений Банка России на территории Чеченской Республики (168 чел., идентифицирующие себя как чеченцы согласно анкетированию), Республики Ингушетия (78 чел., идентифицирующие себя как ингуши), а также различных областей Центрального федерального округа (276 чел.). Генотипирование проводили методом ПЦР в режиме «реального времени» с использованием аллель-специфических зондов. Для исключения влияния близкородственных связей в популяциях, полученные распределения генотипов проверяли на соответствие закону Харди—Вайнберга.

Географический регион	N, чел.	N, GA/AA FII G20210A	Част. GA/AA FII G20210A	N, GA/AA FVL G1691A	Част. GA/AA FVL G1691A
Центральный округ РФ	276	8	2,9%	9	3,3%
Чеченская Республика	168	6	3,6%	31	18,5% *
Республика Ингушетия	78	0	0%	26	33,3% *

Примечание. * — различия в сравнении с жителями Центрального округа статистически значимы ($p < 0,01$)

Полученные нами результаты позволили выявить достоверно повышенную распространённость мутации Лейден у представителей народов Северного Кавказа (чеченцев и ингушей) по сравнению с жителями Центрального округа. В то же время, частоты встречаемости «неблагоприятных» аллелей гена протромбина FII не имели значимых различий. Результаты проведённого генотипирования будут учитываться в качестве «сигнальной информации» при назначении антиромботической терапии сердечно-сосудистых заболеваний, а также для прогноза и коррекции акушерско-гинекологических патологий.

Пространственная организация интерфазного ядра клеток человека и расположение в них малых сверхчисленных маркерных хромосом

Карамышева Т.В.¹, Лип Т.², Рубцов Н.Б.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (ИЦиГ СО РАН), 630090 г.Новосибирск, пр.Лаврентьева, 10, e-mail: kary@bionet.nsc.ru

² Университет им. Фридриха Шиллера, институт генетики человека, г.Йена, Германия

Развитие современной молекулярной биологии и биотехнологии создало базу для разработки новых методов медицинской диагностики. Использование традиционных методов окрашивания, позволило идентифицировать хромосомные аномалии с решением меньше, чем 5×10^6 п.н. Однако в ряде случаев хромосомные аберрации слишком малы и слишком сложны для того, чтобы быть полностью диагностированы с помощью метода дифференциального окрашивания. Особое место среди исследования хромосомных патологий человека занимает анализ малых сверхчисленных маркерных хромосом (СМХ) человека. Из 6 миллиардов живущих людей около 2,7 млн несут СМХ. Риск развития аномального фенотипа при наличии СМХ составляет около 30%. В работе использовали четыре культуры фиксированных клеток здоровых доноров и пациентов, содержащих в кариотипе малую сверхчисленную маркерную хромосому. Два случая, когда СМХ — это инвентированная дупликация (inv-dup) хромосомы 18 и 15, «минутная» маркерная хромосома, производная хромосомы 16 (min(16)) и СМХ результат транслокации хромосомы 8 и 18 (der(18)t(8;18). С помощью метода микродиссекции и трехмерной, суспензионной гибридизации *in situ* (S-FISH) был проведён детальный анализ положения сверхчисленных маркерных хромосом человека и хромосом из которых они произошли, оценивали ориентацию гомологичных хромосом, их колоколлизацию, отдельную локализацию и прилежание СМХ к гомологичным хромосомным районам. 3D-FISH на интерфазных ядрах клеток пациентов показал, что min(16) маркерная хромосома в 13 из 25 проанализированных клеток (52%) локализовалась в равной степени на периферии, внутри и в центре интерфазного ядра; маркерные хромосомы inv dup(15) в 25/42 (57%) и der(18)t(8;18) преимущественно располагались на границе ядра; маркерная хромосома inv dup(18) в 16/36 (44%) случаях преимущественно располагалась на периферии интерфазного ядра. Интересно отметить, что в 23/35 (65%) der(18)t(8;18) СМХ колоколлизировалась с хромосомой 8, и только в 11/35 (31%) с хромосомой 18 и в 8/35 клеток (23%) прилежала к хромосоме 19. По-видимому, в последнем случае на положение СМХ влияние оказывает эффект положения сложных перестроек.

Клинический случай синдрома Шинцеля

Карельян В.И., Тимолянова Е.К.,

Байбикова Г.Ш., Шокарев Р.А.

ГБУ РО «Госпиталь для ветеранов войн»;

г.Ростов-на-Дону, ул. 26-линия, 27

ФГБУ «Научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии» Министерства здравоохранения Российской Федерации; г.Ростов-на-Дону, ул. Мечникова, 43

E-mail: karelyan.vera@mail.ru

Синдром Шинцеля — редкое заболевание, обусловленное мутацией в гене *ТВХ3* и наследуемое аутосомно-доминантно. Основными клиническими проявлениями являются: редукционные пороки рук с локтевой стороны, недоразвитие или отсутствие молочных желёз, волос и потовых желёз в аксиальной области.

Приводим описание спорадического случая синдрома Шинцеля в семье у монохориальных близнецов 13 лет.

Девочки родились от 1-й беременности у матери 31 года и отца 39 лет, преждевременных родов на 34—35 неделе с массой тела 1200 г и 1300 г. Раннее психомоторное развитие детей — без грубой задержки, но имеют трудности обучения в школе.

При осмотре девочек отмечены гипоплазия 4-х и 5-х пястных костей, клинодактилия 5-х пальцев рук с наличием на них одной флексорной борозды, отсутствие сосков молочных желёз, сниженное потоотделение, гиперметропический астигматизм и расходящееся косоглазие. Первый sibс из двойни дополнительно страдает сколиозом грудного и поясничного отделов позвоночника в результате наличия клиновидного позвонка Th12 и непарного ребра.

Аналогичная патология не обнаружена у родственников близнецов. Возможно, что заболевание обусловлено первичной мутацией, связанной с возрастом отца.

Поиск ассоциаций инсерций Alu-элементов с долголетием

Каримов Д.Д.¹, Мазай А.К.², Эрдман В.В.¹, Насибуллин Т.Р.¹, Мустафина О.Е.¹

¹ Институт биохимии и генетики УНЦ РАН,

² Уфа, просп. Октября 71

г. БГПУ им. М. Акмуллы,

г. Уфа, ул. Октябрьской революции 3а корп. 2

karriden@gmail.com

Цель исследования состояла в анализе ассоциаций Alu-инсерционных локусов Yb8AC702 в гене *PKHD1L1* и Ya5ac2145 в гене *STK38L* с долголетием человека.

Была использована выборка из 1722 чел., 20—109 лет, этнических татар, проживающих в РБ. Выделение ДНК проводилось методом фенольно-хлороформной экстракции; генотипирование осуществлялось методом ПЦР; статистический анализ производился с использованием ПО SPSS V. 17.0. Для сравнения частот аллелей и генотипов использовался точный двусторонний тест Фишера. При анализе результатов исследования выборку подразделяли на возрастные группы согласно классификации, принятой на 7-й Всесоюзной конференции по проблемам возрастной морфологии, физиологии и биохимии.

Охарактеризовано распределение частот Alu-инсерционного локуса Yb8AC702 гена *PKHD1L1* (8q23.2). Частоты генотипов *PKHD1L1**i/*i, *PKHD1L1**i/*d, и *PKHD1L1**d/*D составили 21,1%, 54,25% и 24,65% соотв.; частоты аллелей *PKHD1L1**I и *PKHD1L1**D составили 48,23% и 51,77% соотв. Распределение частот генотипов не соответствует критерию Харди—Вайнберга ($\chi^2 = 11,002$, $p = 0,004$, $n = 2$), равновесное распределение в каждой возрастной группе соблюдается.

При попарном сравнении выявлено значимое снижение частоты генотипа *PKHD1L1**i/*d и повышение частоты генотипа *PKHD1L1**D/*D с возрастом. Согласно данным регрессионного анализа, с возрастом повышается вероятность накопления генотипа *PKHD1L1**D/*D.

Охарактеризовано распределение частот Alu-инсерционного локуса Ya5ac2145 гена *STK38L* (12p11.23). Частоты генотипов *STK38L**i/*i, *STK38L**i/*d и *STK38L**d/*D составили 1,93%, 17,7% и 80,37% соотв.; частоты аллелей *STK38L**I и *STK38L**D составили 10,78% и 89,22% соотв. Наблюдаемое распределение частот генотипов не соответствует критерию Харди—Вайнберга ($\chi^2 = 8,046$, $p = 0,018$, $n = 2$), равновесное распределение в каждой возрастной группе соблюдается.

При попарном сравнении частот аллелей и генотипов статистически значимых различий между возрастными группами обнаружено не было. Согласно данным регрессионного анализа, с возрастом снижается вероятность накопления генотипов *STK38L**I/*I и *STK38L**D/*D и повышается вероятность накопления генотипа *STK38L**I/*D.

Работа поддержана грантом РФФИ-Поволжье №14-04-97094.

Исследование взаимосвязи промоторного полиморфизма -308G>A в гене фактора некроза опухоли с развитием и течением острого панкреатита у русских жителей Центральной России

Картига Лидиджа С., Самгина Т.А., Бушуева О.Ю., Назаренко П.М., Полоников А.В.

Курский государственный медицинский университет, г. Курск tass@list.ru

Важнейшую роль в патогенезе острого панкреатита (ОП) играет активация цитокинового каскада, обуславливающая выброс различных медиаторов воспаления и способствующая деструктивно-воспалительным изменениям поджелудочной железы. Одним из наиболее мощных провоспалительных цитокинов является фактор некроза опухоли (TNF), который модулирует экспрессию генов транскрипционных и ростовых факторов, рецепторов клеточной поверхности и острофазных белков и играет важную роль в противоинфекционном и противоопухолевом иммунитете. Целью настоящего исследования было изучение связи полиморфизма -308G>A гена *TNF* с риском развития и характером течения острого панкреатита у русских жителей Центральной России, преимущественно уроженцев Курской области. Материалом для исследования послужили образцы ДНК 190 больных ОП (53 женщины и 137 мужчин) и 217 здоровых индивидов русской национальности (72 женщины и 145 мужчин), находившихся на стационарном лечении в хирургических отделениях г. Курска в период с 2012 по 2013 гг. Генотипирование полиморфизма -308G>A гена *TNF* проводилось методом ПЦР в реальном времени с использованием синтезированных аллель-специфических TaqMan-зондов. Генотипы исследуемого полиморфизма находились в соответствии с распределением Харди—Вайнберга ($p > 0,05$). Частоты аллелей и генотипов полиморфизма -308G>A гена *TNF* не различались в группах здоровых лиц и больных острым панкреатитом. Также не было установлено статистически значимых различий в частотах аллелей и генотипов *TNF* между группами больных небилиарным ОП и здоровыми лицами. С целью определения связи изучаемого ДНК-полиморфизма с тяжестью течения ОП нами был проведён анализ ассоциации раздельно в группах больных с тяжёлой и нетяжёлой формами заболевания. Было установлено, что гетерозиготный генотип -308G/A ассоциировался с риском нетяжёлой формы ОП OR = 1,81 (95% CI 1,02—3,23 $p = 0,04$). По-видимому, полиморфизм -308G>A гена *TNF* не вносит существенного вклада в формирование деструктивных изменений в поджелудочной железе, обнаруживаемых при тяжёлой форме болезни.

Идентификация генов предрасположенности к бронхИАльной астме в различных этнических группах

Карунас А.С.^{1,2}, Федорова Ю.Ю.¹, Юнусбаев Б.Б.¹, Гималова Г.Ф.¹, Хуснутдинова Э.К.^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г. Уфа, Пр. Октября, 71; carunas@list.ru

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Башкирский государственный университет, г. Уфа, ул. З. Валиди, 32.

Бронхиальная астма (БА) — хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей, развивающееся при взаимодействии многочисленных факторов окружающей среды и наследственной предрасположенности. Опубликованные к настоящему времени результаты исследований свидетельствуют об участии в этиопатогенезе БА множества функционально взаимосвязанных генов и о существовании межпопуляцион-

ных различий в подверженности БА. Полногеномный анализ ассоциации, проведённый у больных БА и индивидов контрольной группы различной этнической принадлежности, проживающих в Республике Башкортостан, показал наличие выраженной ассоциации данного заболевания у русских с полиморфными локусами rs10958058 (8q11.21), rs1492313 (12q12) и rs6004423 (22q11.23); у татар — rs3769309 (2q31.1), rs1511599 (3q26.2), rs10435941 (9q21.2), rs12719740 (15q26.3); у башкир — rs9324750 (5q33.2), rs13207327 (6q27), rs10757282 (9p21.3), rs2155440 (11q22.3). Целью настоящей работы было репликативное исследование вышеперечисленных полиморфных локусов на новой независимой выборке больных БА (132 русских, 105 татар, 73 башкир) и здоровых индивидов контрольной группы (131 русский, 106 татар, 77 башкир) для подтверждения значимости выявленных ассоциаций в развитии БА. Генотипирование полиморфных локусов проводилось методом полимеразной цепной реакции в реальном времени.

В результате проведённого репликативного исследования подтверждена ассоциация полиморфных локусов rs1492313 гена муцина 19 *MUC19* (12q12) и rs6004423 гена неохарактеризованного белка *KIAA1671* (22q11.23) с развитием БА у русских; полиморфных локусов rs3769309 гена фактора обмена гуаниновых нуклеотидов *RAPGEF4* (2q31.1), rs12719740, локализованного рядом с геном рецептора инсулиноподобного фактора роста 1 *IGF1R* (15q26.3), и rs10435941, расположенного рядом с геном транскрипционного фактора *FOXO2* (9q21.2), — с развитием БА у татар; полиморфных локусов rs9324750 гена *GRIAI* (5q33.2), кодирующего субъединицу AMPA-ионотропного рецептора глутамата, и rs13207327 гена антагониста бета-катенина 2 *DACT2* (6q27) — с развитием БА у башкир. Идентифицированы маркёры повышенного и пониженного риска развития БА у индивидов различной этнической принадлежности, а также аллели и генотипы, ассоциированные с тяжёлой формой данного заболевания.

Работа получила финансовую поддержку Российского Фонда фундаментальных исследований (грант РФФИ №13-04-01397).

Молекулярная цитогенетика невываивания беременности: от хромосомных мутаций к идентификации онтогенетически-значимых генов

**Кашеварова А.А.^{1,2}, Скрябин Н.А.^{1,2}, Никитина Т.В.¹,
Саженова Е.А.¹, Жигалина Д.И.², Лебедев И.Н.^{1,2}**

¹ ФГБНУ «НИИ медицинской генетики»,

г.Томск, 634050, ул. Набережная р.Ушайки, д. 10

² Биологический институт Томского государственного университета, г.Томск

kashevarova.anna@gmail.com

Прорыв в области молекулярной цитогенетики, связанный с появлением флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) и применением её для диагностики причин невынашивания беременности, привел к существенному изменению представлений об уровне хромосомного мозаицизма при ранних эмбриональных потерях (до 66% у спонтанных абортусов с анеуплоидным кариотипом; при этом 15% абортусов имеют межканцевые отличия по хромосомному набору), а также позволил идентифицировать новые геномные мутации, в частности моносомии по ряду аутосом. Появление сравнительной геномной гибридизации (CGH) впервые позволило в ходе одной реакции регистрировать анеуплоидии по любой из хромосом. Нами у абортусов с низкой пролиферативной активностью *in vitro* или нормальным кариотипом, по результатам метафазного анализа, с помощью CGH выявлены моносомия 21, трисомии 2, 11, 15, 16, 18 и 22, двойная трисомия с вовлечением хромосом 7 и 20. Более высокоразрешающим методом, в ходе одной реакции детектирующим структурные изменения ДНК (вариации числа

копий, CNV), стала матричная сравнительная геномная гибридизация (aCGH). С использованием микрочипов Agilent 180K нами выявлено 280 CNV в 27 образцах плацентарных тканей при анембрионии с нормальным кариотипом. 93 CNV определены как потенциально патогенные. Анализ обогащения впервые показал ассоциацию анембрионии со следующими KEGG и GO категориями генов: плотные и адгезионные контакты (*YES1*, *OCN*, *CTNNA3* и др.), метаболизм гистидина (*ACY3*, *ALDH3B2*), тирозина (*TH*, *ALDH3B2*), сфинголипидов (*SMPD4*, *ARSA*), метаболические пути (*COX7C*, *LDHC*, *LDHA* и др.), негативная регуляция клеточной коммуникации (*TGFI1*, *NKX2-5* и др.). Неожиданной находкой оказалось преобладание генов нейротрофического взаимодействия лиганд-рецептор (гены рецепторов GABA), и генов, отвечающих за развитие нервной системы в целом и мозга в частности (*TCF7L1*, *EPHA5* и др.). Очевидно, что комплексное использование методов молекулярной цитогенетики позволяет раскрыть новые патогенетические механизмы ранних репродуктивных потерь.

Работа получила финансовую поддержку гранта РФФИ №14-04-32047 и гранта Президента РФ для ВНШ №14.120.14.5096-НШ.

Анализ транскриптома рака мочевого пузыря

**Кекеева Т.В.^{1,2,3,*}, Танас А.С.^{1,3}, Шикеева А.А.^{1,2},
Завалишина Л.Э.², Андреева Ю.Ю.²,
Франк Г.А.², Залетаев Д.В.^{1,3}**

¹ ФГБНУ Медико-генетический научный центр

² ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России

kekeeva@mail.ru

³ ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

Рак мочевого пузыря является одним из наиболее частых новообразований урогенитального тракта в мире. Для уротелиальной карциномы (УК) описано большое количество генетических аномалий, среди них лишь несколько химерных генов с низкой частотой встречаемости. В данной работе проводился поиск новых химерных транскриптов в образцах рака мочевого пузыря с использованием массивного параллельного РНК-секвенирования.

РНК выделяли из свежемороженых опухолевых образцов от трех пациентов с раком мочевого пузыря. Секвенирование проводили по протоколам парноконцевого чтения на платформе Illumina Genome Analyzer II. Для поиска химерных генов использовали программу Chimerascan.

Для трёх образцов получили 55,5 млн, 50,7 млн и 48,5 млн прочтений соответственно, которые выровняли на 26685 генов. Было найдено 284, 226 и 289 возможных химерных транскриптов, их которых приблизительно 30% представлены сквозными прочтениями, 30% — внутрехромосомными химерами и 40% — межхромосомными химерами.

После детального анализа последовательностей потенциальных химерных генов мы выбрали одного кандидата для дальнейшей валидации методами ОТ-ПЦР и секвенирования по Сэнгеру: межхромосомный химерный ген *SEPT9/CYHR1*. Мы подтвердили наличие двух химерных транскриптов: экзон 2 гена *SEPT9* слит с экзоном 3 гена *CYHR1* и экзон 1 *SEPT9* слит с экзоном 3 *CYHR1*. Септин 9 (17q25) — представитель семейства септиновых ГТФ-аз, который участвует в цитокинезе, апоптозе и транспорте везикул. Хромосомная транслокация, вовлекающая *SEPT9* и ген *MLL*, описана при острой миелоидной лейкемии. *CYHR1* (8q24) предположительно имеет функцию связывания с ионами металлов, белками и локализован в цитоплазме, ядре и мембране. Насколько нам известно, этот химерный ген ранее не был описан, в том числе и при раке мочевого пузыря. Дальнейшее изучение нового химерного гена необходимо для понимания его функциональной и клинической значимости в канцерогенезе.

Медико-генетическое консультирование в условиях клиники ВРТ

Ким О.А., Сорокина Е.В., Зуб М.Г.

МАУЗ «Центр вспомогательных репродуктивных технологий» 454031, г. Челябинск, ул. Сталеваров, д. 58-А
kimolya1965@mail.ru

Репродуктивное медико-генетическое консультирование (МГК) имеет ряд особенностей, связанных с различием методов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), с разнородностью пациентов — источников генетического материала (супругеская пара, доноры гамет), со сложностью и длительностью нарушений репродуктивной функции у супругов, с повышенным риском патологии у эмбрионов и плодов. Кроме того, рождение ребёнка вследствие манипуляций и медикаментозных воздействий в ходе применения методов ВРТ накладывает на врачей-генетиков клиники дополнительную ответственность в решении основной задачи МГК — предупреждение врождённых и наследственных заболеваний.

Арсенал методов врача-генетика репродуктивной клиники стандартен (клинико-генеалогический метод, оценка фенотипического статуса, цитогенетический анализ, молекулярно-генетический анализ). Однако, в связи с различиями в задачах МГК пациентов из разных групп, имеется ряд особенностей применения данных тестов.

Важной задачей генетика-консультанта на I этапе является определение вероятности получения «здорового» эмбриона. Одной из причин неудачного исхода применения методов ВРТ является анеуплоидия эмбрионов, вероятность которой увеличивается при наличии цитогенетических особенностей у лиц — источников генетического материала. Повышенный риск врождённой и наследственной патологии у пациентов с длительным бесплодием обуславливает необходимость и обязательность цитогенетического анализа пациентов. По результатам цитогенетического обследования пациентов нашего центра за период 2010—2013 гг. у 10,7% супружеских пар, обследовавшихся перед процедурой ЭКО, выявлены изменения кариотипа у одного из супругов; среди доноров гамет — у 6,7%. В зависимости от показаний, пациентам клиники ВРТ рекомендуются: СYP21-анализ, FMR-анализ, анализ полиморфизмов генов фолатного цикла и системы гемостаза, анализ генов детоксикации, AZF-анализ, CFTR-анализ и др. Все более доступной и востребованной становится преимплантационная генетическая диагностика как метод снижения риска генетических заболеваний потомства.

Изучение роли генов DISC1, GRIA2A и GAD2 в развитии параноидной шизофрении в различных этнических группах из Республики Башкортостан

Киняшева К.О.¹, Гареева А.Э.¹,
Шарафутдинова Д.Р.², Хуснутдинова Э.К.¹

¹ ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Россия, 450054, г.Уфа, Проспект Октября, 71,
e-mail: karina-kinjashewa@rambler.ru

² ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы», Россия, 450000, г.Уфа, ул. Октябрьской революции, 3а

Шизофрения является одним из наиболее тяжёлых многофакторных психических заболеваний с коэффициентом наследования около 80% и приблизительно одинаковой распространённостью во всем мире (ок. 1% населения). Нарушение функционирования глутаматергической и ГАМК-ергической систем, изменение нейропластичности считаются важнейшими факторами этиопатогенеза шизофрении. Целью работы было изучение роли полиморфных локусов rs821597, rs843979 гена DISC1, rs4403097 гена GRIA2A и rs2236418 гена GAD2

в развитии шизофрении в этнических группах русских и татар из Республики Башкортостан. В исследовании приняли участие 338 индивидов, больных параноидной шизофренией (50% русских и 50% татар), и 350 здоровых индивидов (50% русские и 50% татар), соответствующих по возрасту и полу выборке больных. Изучение полиморфных локусов генов DISC1, GAD2, GRIA2A проводили методом ПЦР-ПДРФ-анализа. Анализ неравновесия по сцеплению между локусами попарно проведён с использованием программы Haploview 4.1. Показатель относительного риска (OR) и соответствующий 95%-ный доверительный интервал рассчитывали в программе SISA Tables. Распределение частот аллелей и генотипов полиморфных локусов данных генов в изученных группах соответствовало распределению Харди—Вайнберга. В результате проведённого исследования выявлено, что генотип GAD2*A/A (OR = 3,62; P = 0,0009) и аллель GAD2*A (OR = 3,11; p = 0,002) полиморфного локуса rs2236418 гена GAD2 являются маркерами повышенного риска развития шизофрении у лиц татарской этнической группы. При анализе распределения частот аллелей и генотипов всех остальных полиморфных вариантов: rs821597, rs843979 гена DISC1, rs4403097 гена GRIA2A — у русских и татар статистически значимых различий между группами «больные—контроль» не обнаружено. При анализе распределения частот гаплотипов, сконструированных на основе полиморфных локусов rs821597, rs843979 гена DISC1, между изученными группами достоверные различия не выявлены.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований (№14-04-97012p_поволжье_a).

Неонатальный скрининг в Республике Казахстан: итоги 8 лет

Кирикбаева М.С., Салимбаева Д.Н., Святова Г.С.

Республиканская медико-генетическая консультация, Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии МЗСР РК 050020, г.Алматы, просп. Достык, 125, Казахстан respmgk@mail.ru

Внедрение в 2007 г. в Республике Казахстан (РК) Государственной программы неонатального скрининга на фенилкетонурию (ФКУ) и врождённый гипотиреоз (ВГ) позволило обследовать 1 743 149 новорождённых и своевременно выявить 71 новорождённого с ФКУ и 261 ребёнка с ВГ. В РК неонатальный скрининг проводится на иммунофлюоресцентных анализаторах «Victor Delfia» с использованием наборов «Percin Element».

Средний охват неонатальным скринингом в РК вырос от 51,9% в 2007 г. до 83,4% в 2012 г., в 2014 г. составил 74,6% от общего числа новорождённых. В 8 регионах РК (из 16 регионов) охват неонатальным скринингом превышает 95%, в остальных регионах колеблется от 17% до 80%, что снижает эффективность скрининга. Количество ретестов в динамике снизилось с 7,5% (ФКУ) и 6,1% (ВГ) в 2007—2010 гг. до 3,2% и 1,7% в 2014 г. соответственно. В период 2007—2014 гг. зарегистрирован 1 случай ложноположительного результата при ФКУ (уровень фенилаланина не превышал 2,0 мг/дл).

Концентрация фенилаланина в первичных образцах при ФКУ составила 2,1—35,1 мг/дл, среднее значение фенилаланина у выявленных больных с ФКУ — 9,0 мг/дл. При ВГ концентрация тиреотропного гормона в первичных образцах составила 9,1—34,2 мкУ/мл, среднее значение тиреотропного гормона у выявленных больных с ВГ — 24,5 мкУ/мл. Средний срок постановки диагноза ФКУ и ВГ в РК снизился с 19 дней в 2007—2010 гг. до 10 дней в 2014 г. С 2013 г. РК участвует в международной программе контроля качества неонатального скрининга CDC, USA.

Средняя частота ФКУ в РК составила 1:16 627 новорождённых, что сопоставимо с другими азиатскими популяци-

ями, ВГ — 1:4523 новорождённых. Частота ФКУ в различных регионах РК варьировала от 1:79 343 в г.Астана до 1:4610 в Мангистауской области, ВГ от 1:25 040 в Жамбылской области до 1:1570 Западно-Казахстанской и 1:1665 в Павлодарской областях. Выявленные региональные особенности ФКУ и ВГ в РК возможно обусловлены этническими особенностями данных регионов и популяции РК, в целом.

Изучение пептидных носителей адресной доставки интерферирующих РНК в клетки эндотелия сосудов с целью подавления ангиогенеза при эндометриозе

Киселев А.В., Шубина А.Н., Егорова А.А., Соколов Д.И., Баранов В.С.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург

Эндометриоз (Э) — распространённое гинекологическое заболевание, для которого актуальна разработка подходов к генной терапии. Один из возможных подходов к лечению Э. — подавление ангиогенеза в патологических очагах с помощью миРНК против гена VEGF. Для этой цели необходимы тканеспецифические системы доставки нуклеиновых кислот (НК).

Ранее нами были разработаны пептидные носители, модифицированные лигандом хемокинового рецептора CXCR4, присутствующего на поверхности клеток эндометрия и эндотелия.

В работе исследовали аргинин-богатый носитель без лиганда (L0), его аналог, модифицированный лигандом (L1), две комбинации пептидов L1 и L0 (50мол% — L2, 10мол% — L3). Мы исследовали физико-химические и защитные свойства комплексов носителей с миРНК. Было показано, что такие пептиды эффективно компактизируют миРНК и обеспечивают её защиту от деградации нуклеазами.

Проведена трансфекция *in vitro* клеток эндотелия (гибридома Е.А.Ну926) и глиобластомы человека (A172) комплексами носителей с ДНК, содержащей ген *lacZ*. Установлена высокая эффективность трансфекции комплексов с лиганд-содержащими носителями. Для подавления экспрессии гена VEGFA были проведены трансфекции клеток Е.А.Ну926 и A172 комплексами носителей с миРНК против гена VEGFA. При трансфекции клеток Е.А.Ну926 комплексами с носителями L1 и L2, подавление экспрессии достигало 35—45%. При трансфекции клеток A172 комплексами с лиганд-содержащими носителями подавление экспрессии достигало 65—70%, и было достоверно выше по сравнению с коммерческим носителем полиэтиленгликолем.

Показано, что токсичность комплексов носителей с миРНК *in vitro* не превышает допустимых значений.

В экспериментах по подавлению миграции клеток эндотелия установлено, что доставка комплексов пептидных носителей с миРНК против гена VEGFA в клетки Е.А.Ну926 *in vitro* приводит к существенному снижению миграционной активности. Следовательно, миРНК против гена VEGFA в составе пептидных комплексов подавляет экспрессию этого гена в клетках эндотелия и глиобластомы человека и снижает миграционную активность клеток эндотелия.

Таким образом, пептиды, модифицированные лигандом к рецептору CXCR4, являются перспективными для создания тканеспецифической системы доставки НК в клетки эндотелия человека.

Исследование проведено при поддержке грантов РНФ №14-15-00737 и РФФИ №15-04-00591.

Случай аплазии Мишель у пациентки с врождённой нейросенсорной глухотой в Якутии

Кларов Л.А.¹, Барашков Н.А.^{2,3}, Терютин Ф.М.^{2,3}, Попов М.М.¹, Соловьев А.В.³, Пиенникова В.Г.², Романов Г.П.³, Готовцев Н.Н.³, Федотова Э.Е.⁴, Лугинова Н.В.¹, Федорова С.А.^{2,3}

¹ ГБУ Республики Саха Якутия «Республиканская больница №2 — Центр экстренной медицинской помощи», г.Якутск
e-mail: eizonix@gmail.com

² ФГБНУ «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем», г.Якутск

³ ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», г.Якутск

⁴ ГБУ Республики Саха (Якутия) «Республиканская больница №1 — Национальный центр медицины», г.Якутск

Врождённая нейросенсорная глухота или тугоухость тяжёлой степени регистрируется с частотой в среднем 1 на 1000 новорождённых. Этиология данной патологии чрезвычайно гетерогенна. Однако, по данным различных авторов, врождённые аномалии пирамиды височной кости в среднем регистрируются у 20% индивидов с врождённой нейросенсорной потерей слуха. В структуре пороков развития внутреннего уха более 90% случаев приходится на аномалию Мондини — общие полости и гипоплазию улитки, и около 1% занимает аплазия Мишель. В настоящей работе впервые представлены обобщённые результаты компьютерной (КТ) и магнитно-резонансной томографии (МРТ) редкого случая аплазии Мишель выявленного у пациентки из Якутии с врождённой двухсторонней нейросенсорной глухотой и невропатией отводящего нерва справа. Проведён анализ полученных изображений и дана подробная характеристика изменений на КТ и МРТ исследованиях. Выявленный случай аплазии Мишель характеризуется симметричной агенезией улитки и полукружных каналов, двухсторонней аномалией развития канала лицевого нерва (при этом 7-я пара черепных нервов остается сохранной), сужением внутреннего слухового прохода с обеих сторон, отсутствием преддверно-улиткового нерва (с обеих сторон) и отсутствием отводящего нерва справа (слева отводящий нерв сохранен). Результаты работы подтверждают ранее проведённое исследование о высокой информативности КТ исследования для визуализации аномалий височной кости, а также о возможности применения МРТ для визуализации мостомозжечковых углов.

Работа выполнена при поддержке Грантов РФФИ (14-04-01741_а), (15-44-05106-р_восток_а), проекта Министерства образования и науки РФ ГК №6.656.2014/К, Интеграционного проекта СО РАН №92, а также Гранта Главы Республики Саха (Якутия) для молодых учёных, специалистов и студентов за 2015 г. (РГ№79 от 06.02.2015).

Ген-симптом — новый подход в ассоциативных исследованиях многофакторных заболеваний на примере мигрени

Климов Е.А.^{1,2}, Скоробогатых К.В.³, Сергеев А.В.^{3,4}, Азимова Ю.Э.^{3,5}, Соболев В.В.^{2,6}, Кондратьева Н.С.¹, Афончикова Е.В.¹, Наумова Е.А.¹, Кокаева З.Г.¹, Рудько О.И.¹

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия

klimov_eugeney@mail.ru

² Университетская диагностическая лаборатория, Москва, Россия

³ Университетская клиника головной боли, Москва, Россия

⁴ Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

⁵ Московский государственный медико-стоматологический уни-

верситет им А.И. Евдокимова, Москва, Россия

⁶ ФГБУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» РАМН, Москва, Россия

Развитие молекулярных методов позволило выявить основы многих моногенных заболеваний и наследственных патологий. Между тем, изучение многофакторных заболеваний с явным полигенным наследованием не имеет успеха. Ассоциативные исследования типа «ген—болезнь» не показали результата. Полногеномные ассоциативные исследования (GWAS) позволяют получать большое количество данных о полиморфных локусах генома, однако успехи этого подхода далеки от ожидаемых. Наиболее перспективным подходом по нашему мнению является поиск ассоциаций с клиническими характеристиками заболевания (ген—симптом). Основным пунктом является сбор болезни на составляющие её симптомы и сбор детальных клинических данных, описывающих как качественные, так и количественные показатели симптомов. Это может быть наличие или отсутствие конкретных клинических характеристик, дебют заболевания, интенсивность патологического процесса, эффективность лекарственной терапии и т.д. Результаты исследований ген—симптом имеют существенную практическую ценность, т.к. позволяют прогнозировать течение заболевания, особенности симптоматики и ответ на лекарственную терапию. Наши работы по генетике мигрени, выполняемые с использованием подхода «ген—симптом», позволили не только выявить маркеры клинических характеристик мигрени, но и понять молекулярные механизмы формирования симптомокомплексов мигрени. Это дало нам возможность разработать тест-систему, позволяющую эффективно и персонализированно проводить терапию заболевания.

Болезнь Ниманна—Пика типа С у пациентов взрослого возраста

Клюшников С.А.¹, Захарова Е.Ю.², Прошлякова Т.Ю.², Руденская Г.Е.², Абрамычева Н.Ю.¹, Иллариошкин С.Н.¹

¹ ФГБНУ «Научный центр неврологии», 125367, Москва, Волоколамское ш., д. 80 sergeklyush@gmail.com

² ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1

Болезнь Ниманна—Пика типа С (БНП-С) — орфанное аутосомно-рецессивное заболевание, относящееся к группе лизосомных болезней накопления, при котором нарушается внутриклеточный транспорт липидов и холестерина с накоплением метаболитов в головном мозге и органах ретикулоэндотелиальной системы. Крайне полиморфный фенотип БНП-С в 95% случаев вызывается мутациями гена *NPC1* (18q11-q12), в остальных случаях — *NPC2* (14q24). Ранее в России регистрировались только единичные случаи заболевания у детей.

Под нашим наблюдением находятся 3 взрослых пациента с подтверждённым диагнозом БНП-С.

Пациентка О.С., 23 лет, родом из Беларуси, больна с 15-летнего возраста. Заболевание дебютировало эмоциональной неустойчивостью с последующим развитием когнитивных и личностных нарушений. С 16-летнего возраста появились и постепенно нарастают атаксия, брадикинезия, билатеральная дистония стоп, вертикальный супрануклеарный паралич зрения (ВСПВ), отмечались эпизоды слабоумия. В возрасте 18 лет развился острый психоз со зрительными галлюцинациями, бредом и пространственно-временной дезориентацией. УЗИ органов брюшной полости выявило изолированную «мягкую» спленомегалию. При проведении полного секвенирования гена *NPC1* обнаружены две компаунд-гетерозиготных мутации — с.2861С>Т (р.С954L), описанная ранее, и новая мутация с.326dupT.

У пациентки Н.Л., 28 лет, русской, заболевание медленно прогрессирует с 6-летнего возраста. Неврологический синд-

ром представлен ВСПВ, бульбарными и псевдобульбарными нарушениями речи и глотания, атаксией, негрубыми экстрапиримидными симптомами (брадикинезия, тремор и хорья рук, фокальная дистония левого предплечья), апраксией, пирамидными знаками. Имеют место выраженные когнитивные нарушения, инфантилизм. При проведении УЗИ также выявлена «мягкая» спленомегалия. Сиквенс гена *NPC1* выявил известную мутацию с.3019С>G (р.Р1007А) в гомозиготном состоянии.

Пациент А.С., 19 лет, русский, болен с 9-летнего возраста, особенностью случая является наличие грубых расстройств когнитивных функции, сопровождающихся раздражительностью, агрессией и расторможенностью. В 14-летнем возрасте пациент перенес острый психотический эпизод навязчивого инфантильного фантазирования. В неврологическом статусе — ВСПВ, псевдобульбарный синдром, выраженная атаксия, генерализованная дистония, пирамидный синдром. При проведении УЗИ выявлена гепатоспленомегалия — правая доля печени увеличена до 16 см, размер селезенки 130 x 60 мм. При полном сиквенсе 24 экзонов гена *NPC1* выявлены мутации: с.2861С>Т (р.С954L) и с.1625_1626insTG.

Пациенты Н.Л. и А.С. в настоящее время получают терапию миглустатом сроком свыше 1 года. На фоне проводимого лечения отмечается стабилизация неврологической симптоматики с некоторой тенденцией к улучшению.

Работа частично поддержана грантом РФФИ №13-04-01718а.

Атопический дерматит при хромосомных перестройках

Кноль С.А.^{1,2}, Свечникова Е.В.¹, Кноль Е.Ю.^{1,2}, Максимова Ю.В.^{1,2}

¹ Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования

«Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 630090, г.Новосибирск, Красный просп. 52 knolik83@mail.ru

² Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Новосибирской области

Государственный Новосибирский областной клинический диагностический центр (ГБУЗ НСО ГНОКДЦ), 630047, г.Новосибирск, ул. Залесского 6, корп. 7

Атопический дерматит (АД) является клинически гетерогенным заболеванием. В последние годы активно ведется поиск мутаций ответственных за моногенную форму заболевания. Но, по данным литературы, хромосомные перестройки нередко сопровождаются проявлениями АД. При болезни Дауна кожная симптоматика наблюдается у 70—80% больных в виде ихтиозиформных изменений кожи, изменений ногтей пластинок и волос, нарушений функции салных и потовых желез. При синдроме Клайнфельтера наблюдаются множественные ангиомы, акроцианоз, хронический гипостатический дерматит нижних конечностей и АД. Известны специфические фенотипы, связанные с небольшими хромосомными абберациями, при которых часто встречается АД, например синдром Di-George. Часть таких находок случается среди пациентов клиник, занимающихся экстракорпоральным оплодотворением. При анализе кариотипов у вступивших в программу ЭКО в цитогенетической лаборатории ГБУЗ НСО ГНОКДЦ у 68 выявленных пациентов с различными хромосомными отклонениями у 16 АД имеется в анамнезе, из них у четырёх имеется торпидная форма АД. Причём это было единственным явным клиническим проявлением хромосомной перестройки. В таких случаях бывает трудно определить с этиопатогенетическими взаимоотношениями. Вполне вероятно, что мы недооцениваем роль хромосомной нестабильности и дефектов репарации ДНК в этиологии АД.

**Проблемы репродукции
и структурные аномалии хромосом.
Исследование феномена преобладания женщин
среди фертильных носителей
реципрокных транслокаций**

**Ковалева Н.В.¹, Пантова И.Г.², Хитрикова Л.Е.²,
Шандлоренко С.К.², Прозорова М.В.²**

¹ Научно-исследовательский детский ортопедический институт
им. Г.И. Турнера

196603, Санкт-Петербург, Пушкин, Парковая ул., д. 64-68
kovalevanv2007@yandex.ru

² СПб ГКУЗ «Диагностический центр (медико-генетический)»

Преобладание женщин среди фертильных носителей реципрокных транслокаций — давно установленный факт, который принято объяснять стерильностью мужчин-носителей этого типа транслокаций. При этом корректные сравнительные исследования не были проведены. Задачами данного исследования являлись: сравнение частоты носителей сбалансированных перестроек среди пациентов с бесплодием и с привычным невынашиванием и анализ соотношения полов (СП) у носителей перестроек в этих группах.

Среди пациентов, обследованных по поводу бесплодия (594 мужчин и 590 женщин), выявлены 3 мужчины и 7 женщин — носителей реципрокных транслокаций и 3 мужчины — носителей инверсии. Среди пациентов, обследованных по поводу привычного невынашивания (3390 мужчин и 3736 женщин), выявлены 12 мужчин и 35 женщин — носителей реципрокных транслокаций, 5 мужчин и 8 женщин — носителей робертсоновских транслокаций и 9 мужчин и 9 женщин — носителей инверсий.

Результаты метаанализа собственных и опубликованных данных обследования пар с проблемами репродукции показали, что среди пациентов с бесплодием частота носителей реципрокных транслокаций составила 0,47% (70/14 928) у мужчин и 0,4% (60/14 946) у женщин, СП = 1,17, что статистически значимо не отличается от 1,06 в популяции. Робертсоновские транслокации в этой группе обнаружены с частотой 0,51% у мужчин и 0,15% у женщин, СП = 3,4, различие с популяционным значением статистически значимо при $p < 0,0001$. Инверсии чаще обнаруживались у женщин, чем у мужчин, 0,15% и 0,28%, СП = 0,52. Среди пациентов с привычным невынашиванием частота носителей реципрокных транслокаций значительно выше, чем у пациентов с бесплодием: 0,78% (139/17901) у мужчин и 1,44% (263/18247) у женщин, СП = 0,54, различия между группами и по полу статистически значимы при $p < 0,0001$. Робертсоновские транслокации обнаружены у 0,34% мужчин и у 0,63% женщин, СП = 0,54, $p < 0,001$. Частота инверсий составляла 0,18% и 0,18% соответственно, СП = 1.

Полученные результаты согласуются с известным представлением о том, что преобладание женщин среди фертильных носителей робертсоновских транслокаций объясняется стерильностью мужчин-носителей таких перестроек. Однако превалирование женщин среди фертильных носителей реципрокных транслокаций не может объясняться этой причиной. Во-первых, потому, что не наблюдается существенного превалирования мужчин над женщинами среди бесплодных носителей этого типа транслокаций, во-вторых, потому, что частота мужчин-носителей транслокации среди пациентов с бесплодием значительно ниже частоты среди фертильных носителей. Очевидно, что причиной обсуждаемого феномена являются присущие оогенезу факторы, влияющие на сегрегацию аберрантных хромосом.

**Исследование аддитивного эффекта генов
цитокинов, факторов роста, фоллатного цикла
при ранних эмбриональных потерях**

Коваленко К.А., Машкина Е.В.

Южный федеральный университет,
Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1;
konst_ak@mail.ru

При наличии аллельных вариантов нескольких генов-кандидатов, продукты которых задействованы в выполнении общих функций и процессов, возможно нарушение работы всего метаболического пути за счёт аддитивного эффекта, когда незначительные, но многочисленные изменения приводят к формированию нового фенотипа. В работе использованы данные по генотипированию образцов ДНК, полученных из клеток крови женщин с физиологически протекающей беременностью и невынашиванием беременности первого триместра, а также из клеток хорионической и децидуальной тканей, полученных в случаях спонтанного аборта или неразвивающейся беременности. Анализ межгенных взаимодействий проводили с помощью алгоритма снижения размерности (MDR). Модель межгенных взаимодействий считали валидной, если её согласованность была не менее 9/10.

Сочетанный анализ генотипов по аллельным вариантам генов фоллатного цикла показал, что риск невынашивания беременности первого триместра значимо повышен для женщин, имеющих в своем генотипе полиморфные варианты генов *MTHFR*, *MTRR* и *SERPINE1*. При таком генотипе повышается риск нарушений кровообращения в сосудах формирующейся плаценты; возможно нарушение процессов метилирования ДНК, сегрегации хромосом при делении клеток. Сочетанный анализ аллельных вариантов генов фоллатного обмена, факторов свёртывающей системы крови, а также цитокинов показал, что риск невынашивания беременности увеличивается при наличии в генотипе женщины полиморфных вариантов генов фоллатного цикла, провоспалительных цитокинов и ингибитора активатора плазминогена. Мы применили метод MDR для анализа возможного взаимодействия между наличием полиморфных вариантов и уровнем экспрессии исследуемых генов. Анализ для децидуальной ткани показал, что существует тесная взаимосвязь между наличием полиморфных вариантов генов интерлейкина-10, интерлейкина-6 и уровнем экспрессии генов *IL-1β*, *IL-10*. Для клеток хорионической ткани выявлена сопряжённость наличия полиморфного варианта гена *IL-1β* с особенностями экспрессии генов *IL-1β*, *IL-10*, *TNFA*. Таким образом, аллельные варианты, уровень экспрессии, а также сочетанный эффект полиморфных вариантов одних генов с уровнем экспрессии других генов-кандидатов ассоциированы с невынашиванием беременности в первом триместре.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (проект 6.98.2014/К).

**Повреждения ДНК человека при действии
тяжёлых металлов и алкилирующих агентов**

Кожина Е.А.¹, Стукалов С.В.¹, Кузин С.М.²

¹ Медико-генетический научный центр, Москва
e_kozhina@mail.ru

² Московский государственный медико-стоматологический университет, Москва

Ранее нами было показано, что ионы свинца и ртути вызывают разрывы ДНК в клетках человека, выявляемых методом «ДНК-комет» (%ДНК в хвосте комет, образуемого фрагментами повреждённой ДНК). При этом ионы свинца и ртути проявляют высокую цитотоксичность, индуцируя апоптоз и некроз клеток при повышенных концентрациях.

Однако, есть предположение, что соли тяжёлых металлов могут усиливать и генотоксичность ряда мутагенных факторов

как физической (УФ, радиация), так и химической природы, регистрируемых различными методами оценки повреждений ДНК. Имеются данные и о подавлении солями тяжёлых металлов репарации повреждений, индуцированных генотоксикантами.

В связи с этим интересен вопрос о возможном синергизме генотоксического действия свинца и ртути с известными мутагенами.

В качестве таких модельных генотоксикантов были использованы тиофосфамид и MNNG (N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine) в концентрациях, вызывающих минимальный, но заметный генотоксический эффект, обусловленный их алкилирующей активностью.

Действие веществ оценивали на G0 стадии цикла периферических лимфоцитов крови.

Было показано, что совместное введение в культуры клеток тиофосфамида (10 мкг/мл), нитрата свинца (в субтоксической концентрации 200 мкг/мл) или хлорида ртути (100 мкг/мл) приводит к увеличению генотоксического эффекта, регистрируемого в кометах. Примерно те же закономерности показаны и для совместного действия солей тяжёлых металлов с MNNG в концентрации 2 мкг/мл.

В случае и тиофосфамида, и MNNG при их совместном действии с солями тяжёлых металлов, наблюдается сложение или даже усиление их генотоксических эффектов в выбранном диапазоне концентраций. В присутствии алкилирующих веществ усиливался цитотоксический эффект ионов тяжёлых металлов.

Полученные данные позволяют разработать подходы к оценке не только совместного действия генотоксикантов окружающей среды, но и к оптимизации химиотерапии с учётом загрязнения среды генотоксикантами.

Динамика частоты неонатальной фенилкетонурии в Ханты-Мансийском автономном округе — Югре за восьмилетний период

Колбасин Л.Н., Хмельницкая М.М., Новикова М.В., Кунцевич Н.В., Карцева О.В.

*БУ ХМАО — Югры Окружной кардиологический диспансер «Центр диагностики и сердечно-сосудистой хирургии», МГК, г. Сургут, Россия
kolbasin@okd.ru*

Цель исследования: изучить частоту впервые выявленной фенилкетонурии (ФКУ) на территории ХМАО — Югры в динамике по данным неонатального скрининга новорождённых за 8 лет.

Проведена ретроспективная оценка динамики частоты впервые выявленной ФКУ по результатам неонатального скрининга с 2007 по 2014 г. Определение уровня фенилаланина (ФА) в образце цельной крови в сухих пятнах крови осуществляли флуоресцентным методом с временным разрешением «ФАВР» с использованием реактивов «ФАВР» (ООО «РИКО-Мед», Россия) на многофункциональном анализаторе «Victor» (Wallak, Финляндия). Повышенным значением считали уровень ФА более 2,0 мг/дл. По результатам ретеста при ФА более 7,9 мг/дл диагностировалась ФКУ. Статистическая достоверность различий частот оценивалась по t-критерию Стьюдента при $p < 0,01$.

За 8 лет охват неонатальным скринингом составил 99,3% (197 487 новорождённых). Была сформирована группа риска из 1437 детей (0,7%), которым проводился ретест. В результате у 1,9% из группы риска была диагностирована ФКУ. Таким образом, частота ФКУ в ХМАО — Югре за 8 лет составила 1:7314 новорождённых с линейным снижением в 1,7 раза от максимальной (1:7056) в 2007 г. до минимальной (1:12347) в 2011 г. ($p < 0,001$) с последующим ростом до восьмилетнего максимума (1:4460) в 2,75 раза ($p < 0,001$) в 2012 г. и постепенным снижением в 2,2 раза ($p < 0,001$) в 2014 г. (1:9099).

К вопросу о возможной связи наследственного полиморфизма генов биотрансформации ксенобиотиков *GSTM1* и *GSTT1* с онкопатологией у коренного и пришлого населения г.Новокузнецка Кемеровской области

Колбаско А.В.¹, Лузина Ф.А.², Дорошилова А.В.², Смирнов В.Ю.³, Гуляева О.Н.², Казичкая А.С.²

¹ ГБОУ ДПО «Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей» Минздрава России, г.Новокузнецк, пр. Строителей, 5;

postmastergiduv@rambler.ru

² ФГБНУ «НИИ комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний», г.Новокузнецк, ул. Кутузова 23; *luzina45@mail.ru*

³ Институт этнологии и антропологии РАН им. Н.Н. Миклухо-Маклая, Москва, Ленинский просп., 32а; *smirnov_voi@mail.ru*

Проблема этногенетических различий в смертности населения от онкологических заболеваний является актуальной. Первичная заболеваемость населения г. Новокузнецка злокачественными новообразованиями сохраняет долговременную тенденцию роста (с 252 случаев на 100 тыс. населения в 1985 г. до 375 случаев в 2007 г.). В структуре причин смерти населения класс «Новообразования» (C00—C97) занимает третье место и составляет: 1995 г. — 11,7%, 2007 г. — 14,4%. Впервые нами изучена структура смертности шорцев г.Новокузнецка за период с 1970 по 2000 гг. Выяснено, что процент смертей от злокачественных новообразований у коренного населения ниже, чем в целом по городу (70-е годы — 7,2%, 80-е годы — 10,9%, 90-е годы — 6,3%). Рак желудка и пищевода у лиц коренной национальности занимает первое место, на втором месте у мужчин — рак лёгких, у женщин — рак матки.

Ранее нами была выявлена этническая специфика в распределении полиморфных вариантов генов *GSTM1* и *GSTT1* системы биотрансформации ксенобиотиков у коренного шорского и пришлого населения Кемеровской области. Частоты «нулевых» генотипов и их сочетаний у шорцев статистически значимо ниже, чем у европеоидного населения. В то же время в исследованиях отечественных и зарубежных авторов показано, что гены биотрансформации ксенобиотиков *GSTM1* и *GSTT1* вовлечены в процессы канцерогенеза. «Нулевые» генотипы *GSTM1* 0/0 и *GSTT1* 0/0 рассматриваются в качестве маркёров риска онкологических заболеваний. Можно предположить, что более низкая смертность от злокачественных новообразований коренного шорского населения может быть связана с полиморфизмом этих генов глутатион-S-трансфераз M1 и T1.

Поиск молекулярных механизмов действия регуляторного пептида селанк

Коломин Т.А.¹, Филатова Е.В.¹, Волкова А.П.¹, Шадрин М.И.¹, Рыбалкина Е.Ю.², Павлова Г.В.², Лимборская С.А.¹, Мясоедов Н.Ф.¹, Сломинский П.А.¹

¹ ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, 123182 Москва, пл. Акад. Курчатова, д.2
e-mail: kotimur@img.ras.ru

² ФГБУН Институт биологии гена РАН, 119334, Москва, ул. Вавилова, д. 34/5

Регуляторный пептид селанк, недавно вошедший в клиническую практику в качестве противотревожного препарата, является перспективной альтернативой транквилизаторам благодаря практически полному отсутствию побочных эффектов. Сходство клинического действия селанка с действием препаратов бензодиазипинового ряда позволяет предположить, что

в основе механизма его действия лежит способность модулировать работу ГАМК-ергической системы.

Для проверки этой гипотезы проведён анализ действия селанка и ГАМК на экспрессию 84 генов, вовлечённых в процессы нейрорегуляции, в частности в функционирование ГАМК-ергической системы, в моделях *in vitro* и *in vivo*. На культуре нейробластных клеток IMR-32, экспрессирующих функциональные ГАМК-А рецепторы, было показано, что спустя час после инкубации с селанком или ГАМК наблюдаются значительные изменения в экспрессии отдельных групп генов. При этом не было выявлено корреляция между действием этих соединений. Это говорит о том, что действие селанка в данном типе клеток не связано с активацией ГАМК-А рецепторов и, по всей видимости, опосредовано включением альтернативных механизмов.

В системе *in vivo*, напротив, была выявлена корреляция между действием селанка и ГАМК на экспрессию исследуемых генов. Показано, что в лобной коре мозга крысы спустя 1 час после введения селанка или ГАМК наблюдаются перекрывающиеся профили экспрессии, которые характеризуются преимущественным снижением уровня мРНК исследуемых генов. Через 3 часа после введения селанка или ГАМК наблюдаются в основном однонаправленные, но менее выраженные изменения экспрессии этих генов. Для некоторых генов (*Gabra6*, *Gabrb1*, *Gabrb3*, *Gabbr2*, *Cacna1a*, *Slc6a12*, *Gad1*) эффекты селанка и ГАМК резко отличались. Таким образом, можно говорить о способности селанка *in vivo* оказывать модулирующее действие на ГАМК-ергическую систему, в основе которого, по всей видимости, лежит как взаимодействие с ГАМК-А рецепторами, так и включение альтернативных сигнальных путей.

Клинико-генетический анализ хорей Гентингтона в Воронежской области

*Колядин Д.А., Федотов В.П., Галеева Н.М.,
Забенкова В.В., Поляков А.В.*

¹ БУЗ ВО «ВОКБ№1», Медико-генетическая консультация, г. Воронеж, Московский пр. 151

² ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Москва

Хорея Гентингтона (ХГ) — частое нейродегенеративное заболевание с поражением коры и подкорковых структур головного мозга с аутосомно-доминантным типом наследования, обусловленное экспансией CAG-повторов в гене IT-15 (OMIM 143100).

Цель — оценка распространённости ХГ в Воронежской области, выявление клинического полиморфизма, зависимости его от числа CAG-повторов.

Методы: клинико-генеалогический, МРТ головного мозга, молекулярно-генетический.

Регистр Воронежской МГК за 20 лет включает сведения по 123 семьям (167 больных с ХГ), из них у 81 больного (48,5%) проведён ДНК-анализ и диагноз верифицирован (CAG $n > 35$), точное число CAG-повторов определено у 62 больных (37%). Аутосомно-доминантный характер заболевания в 87% семей. В остальных семьях отсутствовал семейный анамнез. Распространённость ХГ в Воронежской области составила 7,26 на 100 000 населения. Соотношение мужчин/женщин оказалось 46% : 54%. Средний возраст обследования больных составил 42,6 года. В семейных наблюдениях ХГ возраст дебюта болезни широко варьировал от 14 до 69 лет. У 58 больных (71,6%) с классической гипотонико-гиперкинетической формой ХГ дебют в среднем был в 43 года, число CAG-повторов в среднем 44,3 (от 41 до 49). У 17 больных ХГ (21% от числа генотипированных) установлена ювенильная акинетико-ригидная форма с олиго-брадикинезией и интеллектуально-мнестическими нарушениями. Средний возраст дебюта составил 20 лет (от 14 до 25). Клинически характеризовался когнитивными расстройствами, в виде затруднений с обучением, а затем развивался акинетико-ригидный синдром.

В этой группе отмечено значительное увеличение CAG-повторов в среднем 60,2 (53—70). Пациентов с поздним дебютом (старше 60 лет) в воронежской популяции выявлено 6 чел. (7,4%) со средним возрастом начала болезни в 65 лет, количеством CAG-повторов (39—41), характеризовались хореическим гиперкинезом и относительной сохранностью когнитивных функций. Явление антиципации наблюдалось во всех семейных случаях. У больного классической формой ХГ отца определено 49 CAG-повторов, в то время как у дочери с акинетико-ригидной формой, число повторов было 70. В другом семейном случае определены CAG-повторы у матери с классической формой ХГ (CAG = 42), а у дочери — ювенильная форма (CAG = 56).

Разработка эффективной системы детекции дупликаций в гене дистрофина на основе метода MLPA

*Комарова Н.В., Логинова А.Н.,
Рыжкова О.П., Поляков А.В.*

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Медико-генетический научный центр»

115478, Москва, ул. Москворечье, д.1

e-mail: anloginova@mail.ru

Миодистрофия Дюшенна/Беккера (МДД/МДБ) — одно из самых частых нервно-мышечных заболеваний. Это заболевание обусловлено мутациями в гене дистрофина (*DMD*). Частота встречаемости заболевания составляет 1:3500 новорождённых мальчиков. По литературным данным, в 60—65% случаев мутации, приводящие к МДД/МДБ, представляют собой протяжённые делеции, в 30% — точковые мутации, в 5—10% — дупликации.

Обнаружить дупликации, технически, гораздо сложнее, чем делеции, поскольку делеции наблюдаются просто как отсутствие соответствующего фрагмента амплификации у больного человека. Поэтому, для выявления дупликаций в гене *DMD* мы разработали количественный метод определения числа копий экзона гена *DMD*, основанный на методе мультиплексной лигазной реакции (MLPA).

Вся выборка составила 1355 неродственных мальчиков с диагнозом МДД/МДБ, в которой у 550 больных были обнаружены делеции. У 69 пациентов были найдены мутации в генах *CAPN*, *FKRP* и *SMN*, приводящие к другим видам мышечных дистрофий. У 429 больных материал оказался не пригоден. Таким образом, исследуемая выборка составила 307 больных. Было выявлено 62 дупликации, что составляет 20% от всей исследованной выборки. В пересчёте на всю выборку, частота дупликаций составила 11%. Встречались дупликации как одного экзона, так и довольно протяжённые дупликации.

Использование метода количественного MLPA-анализа эффективно для поиска дупликаций в гене дистрофина. При наличии у пробанда делеции/дупликации в гене *DMD*, возможно исследование родственниц по женской линии на носительство мутации. При отсутствии биологического материала от больного также возможно проведение диагностики на носительство мутаций в гене *DMD* методом MLPA-анализа для родственниц больного по женской линии.

Оценка уровня хромосомных aberrаций у работающих ЦДШ МГОК

*Комкова Г.В.^{1,2}, Железнова М.А.¹, Шевцова В.В.^{1,2},
Кононенко Н.И.^{1,2}, Иванов В.П.²,
Бобынцева О.В.², Иванова Н.В.²*

¹ Медико-генетическая консультация КОКБ, г. Курск

² Кафедра биологии, медицинской генетики и экологии КГМУ,

г. Курск

E-mail: okb5@kurskokb.ru

Изучен уровень aberrаций хромосом в лимфоцитах периферической крови у работников ЦДШ МГОК и контрольной группы. Всего обследован 31 человек: (21 работник ЦДШ МГОК и 10 доноров контрольной группы) в возрасте от 23 до 55 лет. Группа ЦДШ МГОК включала работающих на подземном и поверхностном участках с общим стажем работы $21,3 \pm 2,53$ года, стажем работы на данном предприятии $14,2 \pm 2,54$ года, стаж работы в данной должности — $10,5 \pm 2,17$ года. Средний возраст работающих ЦДШ МГОК составил $41,76 \pm 2,38$ года.

Частота клеток с aberrациями хромосом в контрольной группе составила $1,5 \pm 0,17\%$, что не превышает средних значений данного показателя по России — $2,2\%$. Установлено статистически значимое отличие в частоте хромосомных нарушений между группой рабочих и группой сравнения ($t = 2,49$ при $p = 0,018$). Основной вклад в частоту хромосомных aberrаций внесли одиночные фрагменты ($2,3 \pm 0,31$ на 100 метафаз). Различия по одиночным фрагментам между сравниваемыми группами были достоверны ($t = 2,35$).

Средняя частота клеток с хромосомными aberrациями у подземных работающих ЦДШ МГОК составила $2,9 \pm 0,41\%$ и была статистически достоверно выше, чем в контрольной группе ($t = 2,71$; $p = 0,013$). Повышение частоты aberrаций хромосом в лимфоцитах рабочих было за счёт увеличения уровня одиночных фрагментов.

Цитогенетический анализ показал увеличение частоты aberrаций хроматидного типа у работников ЦДШ МГОК, образование которых может быть вызвано комбинированным воздействием вредных факторов производства и химических мутагенов. Данные хромосомные aberrации в одинаковой степени встречались в группе работающих как подземных, так и на поверхностных участках ЦДШ МГОК.

На основании проведённого исследования выделена группа лиц с выраженными цитогенетическими эффектами (от 3—4% aberrантных клеток), которая может быть поставлена на учёт в областной медико-генетической консультации.

Ассоциация локуса С677Т гена *MTHFR* с клиническими симптомами шизофрении

Кондратенко А.С., Голоенко И.М., Шатарнова Т.М., Даниленко Н.Г.

Институт генетики и цитологии НАН РБ, лаборатория нехромосомной наследственности
Беларусь, 220027, Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: cytoplasmic@mail.ru

Продукт гена *MTHFR* (1p36.3) является основным ферментом метаболизма фолатов, а полиморфный локус С677Т рассматривается в качестве возможного наследственного предиктора развития шизофрении.

Полиморфный локус С677Т (rs1801133) гена *MTHFR* обусловлен точковой заменой С→Т в его четвёртом экзоне, что отражается на структуре белка, приводя к снижению его ферментативной активности на 35% для СТ- и на 70% для ТТ-носителей.

Цель работы: оценить связь полиморфизма С677Т гена *MTHFR* с риском шизофрении и степенью выраженности симптомов психометрической шкалы PANSS.

В исследовании приняли участие лица, страдающие шизофренией (131 чел.) и контрольная выборка здоровых людей (93 чел.). Данные обрабатывались с использованием пакета IBM SPSS Statistics 22.0.

Сравнительный анализ не выявил различий частот генотипов и аллелей С677Т/ *MTHFR* между пациентами и контрольной группой.

При исследовании связи локуса С677Т гена *MTHFR* со степенью тяжести симптомов у пациентов с шизофренией обнару-

жено, что носительство Т-аллеля связано с более тяжёлой выраженностью позитивных симптомов: расстройства мышления ($p = 0,001$ при $\alpha = 0,01$) и идеи величия ($p = 0,05$), а также симптома общепсихопатологической шкалы — манерность и стереотипное поведение ($p < 0,05$). Статистически достоверная связь между носительством Т-аллеля и увеличением суммарного балла по позитивным симптомам ($p < 0,05$) даёт основания предполагать патогенетическую значимость Т-аллеля в формировании более выраженного позитивного синдрома при шизофрении.

NO-синтазы и мигрень: роль полиморфных вариантов генов в патогенезе заболевания

Кондратьева Н.С.¹, Азимова Ю.Э.^{2,3}, Скоробогатых К.В.³, Сергеев А.В.^{3,4}, Кокаева З.Г.¹, Табеева Г.Р.^{3,4}, Климов Е.А.^{1,5}

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия
natalia_kondratieva@mail.ru

² Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия

³ Университетская клиника головной боли, Москва, Россия

⁴ Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

⁵ Университетская диагностическая лаборатория, Москва, Россия

Мигрень — это хроническое заболевание с эпизодическими проявлениями приступов головной боли. Вазкулярная теория патогенеза мигрени основана на факте вазодилатации сосудов головного мозга в момент приступа. Одним из сильнейших вазодилаторов является оксид азота (NO). NO не имеет рецепторов, напрямую взаимодействуя с растворимой гуанилатциклазой гладкомышечной клетки сосуда, приводя к активации сигнального пути вазодилатации. Показано что NO-доноры вызывают мигренозно-подобные приступы головной боли как у 100% пациентов, так и у здоровых добровольцев. Синтез NO осуществляют NO-синтазы: нейрональная, индуцибельная и эндотелиальная, кодируемые генами *NOS1*, *NOS2* и *NOS3* соответственно. Все они присутствуют в головном мозге.

Цель нашей работы — поиск ассоциаций SNP в генах *NOS1* (rs41279104, с.-421+2052G>A), *NOS2* (rs2779249, с.-1290G>T) и *NOS3* (rs2070744, с.-813C>T) с мигренью.

Анализ SNP проводили методом ПЦР в реальном времени со специфичными зондами (ООО ДНК-Синтез). В работе использованы следующие выборки:

1) 146 пациентов с мигренью (МКГБ-III);

2) контроль — 349 необследованных жителей Москвы.

Для SNP в генах *NOS1* и *NOS2* не выявлено ассоциаций с заболеванием ($p > 0,5$ во всех случаях). Для гена *NOS3* показана ассоциация с мигренью ($\chi^2 = 4,47$, $p = 0,03$). Генотип *NOS3* GG увеличивает риск развития мигрени в 1,88 раз ($\chi^2 = 5,22$, $p = 0,02$), в то время как присутствие доминантного аллеля А имеет протективный эффект. С использованием программы AP Sampler 3.6 выявлен увеличивающий риск развития мигрени комплексный гаплотип: *NOS2*_rs2779249:A + *NOS3*_rs2070744:G,G + *NOS1*_rs41279104:A (Fisher's exact p-value = 0,01, OR = 12,09, permutation p-value = 0,02).

Молекулярная диагностика наследственных миопатий методом полноэкзомного секвенирования

Коновалов Ф.А., Федотов В.П., Умаханова З.Р., Ахмедова П.Г., Магомедова Р.М., Бардаков С.Н., Мархаонов А.В., Исаев А.А., Деев Р.В.

ООО «ЦГРМ ИСКЧ», 119991 Москва, ул. Губкина, д. 3, корп. 1
konovalov@hsci.ru

Наследственные миопатии — клинически и генетически гетерогенная группа заболеваний, для молекулярной диагнос-

тики которых особенно важна возможность вести поиск мутаций среди множества генов. Для исследования были отобраны 9 пациентов из Дагестана, Тюмени, Калининграда и Свердловской области с предполагаемыми диагнозами из группы наследственных миопатий. ДНК из периферической крови пациентов была подвергнута полноэкзому секвенированию на приборе Illumina HiSeq 2000 с обогащением библиотеки по методике Agilent SureSelect Human All Exon V4; совокупная длина целевых последовательностей составила 50 млн п.н., соответствующих кодирующим участкам ~19 000 известных генов человека. Библиотека была прочитана парно-концевым методом со средним покрытием 86x и длиной прочтений 2 x 90 пар оснований. Обработка первичных данных секвенирования была проведена в ЦГРМ ИСКЧ с помощью собственного программного алгоритма, обеспечивающего поиск отличий генов пациента от референсной последовательности генома человека (hg19) и аннотацию выявленных отличий более чем по 70 параметрам. Область поиска мутаций была ограничена 85 генами, ассоциированными с различными формами наследственных миопатий.

Сведения о результатах молекулярно-генетического обследования

Образец	Ген	Тип выявленных мутаций	Уточнённый диагноз (ОММ#) по результатам анализа
D0030	<i>DYSF</i>	Миссенс	ПКМД 2В (253601)
D0037	<i>COL6A2</i>	Нарушение сайта сплайсинга	Миопатия Бетлема (158810)
D0038	<i>CAPN3</i>	Миссенс	ПКМД 2А (253600)
D0057	<i>PLEC</i>	Нонсенс	ПКМД 2Q (613723)
D0058	<i>COL6A1</i>	Нарушение сайта сплайсинга	Миодистрофия Ульриха (254090)
D0059	<i>COL6A1</i>	Нарушение сайта сплайсинга	Миодистрофия Ульриха (254090)
D0076	<i>FKRP</i>	Сдвиг рамки считывания	ПКМД 2I (607155)
D0120	<i>GNE</i>	Миссенс	Дистальная миопатия Нонака (605820)
D0129	<i>DYSF</i>	Миссенс	ПКМД 2В (253601)

У всех 9 пациентов были выявлены мутации (как известные, так и новые), подходящие на роль причины заболевания с учётом клинических данных и типа наследования (таблица). Результаты исследования демонстрируют высокую эффективность полноэкзомного секвенирования в молекулярной диагностике наследственных миопатий.

Диагностика болезни Краббе в Украине

Кормоз С.В.¹, Трофимова Н.С.¹, Мызык Н.И.¹, Живица Ю.В.¹, Цыганкова М.А.², Ольхович Н.В.^{1,3}, Пичкур Н.А.^{1,3}, Горovenko Н.Г.^{1,3}

¹ Центр метаболических заболеваний, НДСБ «ОХМАТДЕТ», г. Киев

² Медико-генетический центр, НДСБ «ОХМАТДЕТ», г. Киев

³ Кафедра медицинской и лабораторной генетики, НМАПО им. П.Л. Шупика, г. Киев
kormoz.sv@ukr.net

Болезнь Краббе — редкое наследственное заболевание из группы лизосомных болезней накопления с аутосомно-рецессивным типом наследования, биохимическим дефектом которого является дефицит активности β-галактоцереброзидазы. В зависимости от возраста начала манифестации болезни, различают инфантильную (3—6 мес.), позднюю инфантильную (6 мес. — 3 года), ювенильную (3—10 лет) и взрослую (10—35 лет) формы.

Цель работы: исследование структуры и биохимических особенностей группы пациентов с болезнью Краббе из Украины с целью выявления критериев дифференциальной диагно-

тики этого заболевания среди ранних форм нейродегенеративной патологии.

Определение активности β-галактоцереброзидазы в лейкоцитах периферической крови проводили с использованием флюоресцентного синтетического субстрата 6-гексадеканоиламино-4-МУФ-β-Д-галактозида. В качестве контроля параллельно проводили исследование активности β-галактоцереброзидазы в лейкоцитах периферической крови здорового донора, который не являлся кровным родственником пробанда.

За период 2007—2014 гг. было обследовано 80 пациентов с подозрением на наличие болезни Краббе. Возраст пробандов составлял от 20 дней до 18 лет. Недостаточность β-галактоцереброзидазы выявлена у 8 пациентов, что составило 10% от общего количества обследованных пробандов. Уровень активности β-галактоцереброзидазы у пациентов с недостаточностью был снижен до 0–5% от контрольного значения и составил 0—2,2 нмоль/ч/белка (активность β-галактоцереброзидазы в контроле — 53 ± 20 нмоль/ч/белка). Возраст детей, которым был подтвержден диагноз болезни Краббе, составил от 4 мес. до 1 года. На основании раннего возраста манифестации заболевания, клинической картины и выраженной недостаточности активности β-галактоцереброзидазы всем пациентам был подтвержден диагноз инфантильной формы болезни Краббе.

Учитывая вероятность манифестации этого заболевания в старшем возрасте, дифференциальную диагностику необходимо проводить у лиц любого возраста с прогрессирующими нарушениями центральной и периферической нервной системы.

Клинико-функциональная характеристика детей с синдромом Дауна

Корнюшо Е.М.

ГБОУ ВПО Тверская ГМА Миндрава России
г. Тверь, ул. Советская, д. 4
lenkornusho@mail.ru

Значительная распространённость (1:700—1:800 новорождённых) и преобладание синдрома Дауна (СД) среди всех хромосомных форм олигофрении обусловлено относительно низким уровнем внутриутробной гибели плодов и высокой жизнеспособностью таких больных. Цель исследования: изучить особенности состояния здоровья детей с СД для совершенствования их медицинского обеспечения и оптимизации качества жизни. Проведено комплексное проспективное клиническое и инструментальное обследование 55 детей с СД на первом году жизни. Показано, что врождённые пороки сердца встречались более чем у половины обследованных (65,4%), пороки развития органов ЖКТ выявлены у 12,7% детей, врождённый гипотиреоз — у 7,3%, патология органа зрения отмечена у каждого третьего ребёнка (36,4%). В структуре перинатальной патологии ЦНС выявлены поражения гипоксического, травматического и геморрагического генеза чаще II степени в виде синдрома угнетения (65,4%), мышечной гипотонии (87,4%). У детей с СД наиболее значимыми факторами, определяющими здоровье в ante- и интранатальном периодах, являлись возраст родителей старше 36 лет, отягощённый акушерский анамнез матерей, отягощённое течение настоящей беременности в виде осложнения хронической соматической патологии на протяжении всей беременности, инфекционных заболеваний в I-й половине беременности, угрозы прерывания, анемии; медикаментозное сопровождение беременности, наличие профессиональных вредностей и курения родителей детей, как до, так и во время беременности, осложнённое течение периода родов в виде преждевременных родов и слабости родовой деятельности. Большинство детей с СД при рождении имели средний уровень физического развития, гармоничное развитие и мезосоматический соматотип. При анализе статистических показателей ритма сердца, характеризующих ИВТ, у детей с СД отмечались более низкие значения M_0 (0,34 ± 0,008) и ΔX

(0,049 ± 0,012), чем у здоровых детей данного возраста, что указывает на увеличение влияния гуморального канала на ритм сердца детей с СД. Адаптационные возможности характеризовались наличием гиперсимпатикотонической реактивности (индекс Баевского 4,99 ± 0,122).

Выявленные изменения свидетельствуют о более напряжённом течении послеродовой адаптации и предрасполагают к развитию морфофункциональных отклонений и патологических состояний на дальнейших этапах постнатального онтогенеза.

Влияние полиморфизма R554K гена арилгидрокарбонового рецептора на развитие миомы матки

Корогодина Т.В., Кудрявцева О.К., Семуткина О.Ю., Долженкова Е.М., Полоников А.В., Бушуева О.Ю.

Курский государственный медицинский университет 305041, г. Курск, ул. К. Маркса, д.3, кафедра биологии, медицинской генетики и экологии E-mail: tatius_ktv@mail.ru

Миома матки (ММ) — одна из наиболее распространённых доброкачественных опухолей, развивающаяся из гладкомышечных клеток и встречающаяся у 20—40% женщин репродуктивного возраста. Предполагается, что одним из молекулярных механизмов развития заболевания являются нарушения процессов биотрансформации различных соединений, обладающих генотоксическими свойствами. Известно, что экспрессию генов биотрансформации ксенобиотиков, метаболизирующих полициклические ароматические углеводороды (наиболее опасные химические вещества окружающей среды) регулирует особый вид ядерных рецепторов — арилгидрокарбоновый рецептор (AHR). Наиболее хорошо охарактеризованный полиморфизм R554K влияет на индуцибельность и уровень экспрессии гена *AHR*. Целью нашего исследования стало изучение ассоциации полиморфизма R554K (rs2066853) гена *AHR* с риском развития ММ. Обследованы 275 пациенток с ММ, находившиеся на оперативном лечении в отделении оперативной гинекологии Курского областного перинатального центра и Курского городского родильного дома в период с 2010 по 2014 гг. Контрольную группу составили 182 женщины, сопоставимых по возрасту, не имеющих клинических и УЗИ-признаков ММ. Геномную ДНК выделяли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование полиморфизма R554K гена *AHR* проводили методом ПЦР в режиме «реального времени» путём дискриминации аллелей с помощью TaqMan-зондов на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad). Распределение частот аллелей и генотипов в обеих группах соответствовало равновесию Харди—Вайнберга ($p > 0,05$). Частота вариантного аллеля 554K у больных ММ была выше (0,124), чем в контрольной группе (0,066): OR = 2,00; 95%CI = 1,23—3,25; $p = 0,005$. Частота гетерозигот 554RK у больных ММ также была выше (21,8%), чем в контрольной группе (13,2%): OR = 1,84; 95%CI = 1,10—3,08, $p = 0,02$. Гомозиготный генотип 554RR встречался реже у больных (76,7%), чем в контроле (86,8%): OR = 0,50; 95%CI = 0,30—0,84, $p = 0,01$.

Хромосомный микроматричный анализ

Коростелев С.А.¹, Акимова И.А.², Дадали Е.Л.¹, Дюжев Ж.А.², Канивец И.В.¹, Пьянков Д.В.¹

¹ ФГБНУ «МГНЦ», Москва, ул. Москворечье, 1 korostelevsa@genomed.ru

² Лаборатория молекулярной патологии «Геномед», Москва, Подольское ш., 8 стр. 5

Хромосомный микроматричный анализ (ХМА) — молекулярно-цитогенетический диагностический метод, основанный

на использовании SNP-олигонуклеотидных гибридизационных чипов (микроматриц), и представляет собой мощный практический инструмент для выявления большого количества хромосомных aberrаций в ходе одного исследования. Благодаря данной технологии возможен анализ вариаций числа копий (CNV), детекция делеций, инсерций, потери гетерозиготности и многого другого.

Используемые чипы позволяют проводить полногеномный анализ с высоким разрешением, которого нельзя достигнуть путём проведения рутинного кариотипирования. Возможность применения данной методики значительно облегчает постановку диагноза пациентам с задержкой развития, расстройствами аутистического спектра и различными врождёнными аномалиями; хромосомный микроматричный анализ рекомендован в ряде стран в качестве теста первой линии при диагностике подобных заболеваний. Использование ХМА также предоставляет широкие возможности в идентификации новых патогенных дисбалансов числа копий, в определении клинической значимости уже описанных ранее CNV, а также полиморфных изменений у здоровых людей.

Анализ данных, полученных в результате ХМА пациентов с множественными врождёнными пороками развития (МВПР) и задержкой развития проведённый группой молекулярной цитогенетики МГНЦ РАМН, показал, что патогенный хромосомный дисбаланс присутствовал у 22% в данной группе. Такие данные говорят о необходимости широкого применения ХМА в практике генетического консультирования в России в качестве исследования первой линии для пациентов с МВПР и задержкой развития.

Генетическое консультирование в условиях перинатального центра

Корхмазова С.А., Хачак С.Н., Якуть С.Д.

ГБУЗ ДККБ, Краевой перинатальный центр, Краснодар, ул. Площадь Победы 1 Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, ул. Седина, 4 sa_korxmazova@mail.ru

Первичная профилактика врождённой и наследственной патологии является одним из возможных способов сохранения генофонда населения и осуществляется взаимодействием акушерско-гинекологической, медико-генетической, педиатрической и другими службами края.

С момента открытия в 2011 г. женской консультации краевого Перинатального центра, на базе Детской краевой клинической больницы г. Краснодара, наряду с медико-генетической консультацией, врачом-генетиком проводится генетическое консультирование с целью периконцепционной профилактики врождённой и наследственной патологии при планировании беременности. При консультировании используются все методы диагностики наследственной патологии (клинико-генеалогический, биохимический, цитогенетический, молекулярно-генетический, иммунологический). По результатам исследований назначается периконцепционная профилактика. В 2014 г. в целях периконцепционной профилактики проконсультировано 212 семей, планирующих беременность и 233 беременных женщин, что составило 33,5% и 36,8% от общего числа обратившихся за медико-генетической помощью в Перинатальный центр. При наступлении беременности врач-генетик с акушером-гинекологом проводит совместное наблюдение беременной женщины, в ходе которого осуществляет расчёт индивидуального генетического риска и совместный мониторинг за состоянием плода. Всего взято на учёт по беременности в женской консультации 811 женщин, из них 784 проведена пренатальная диагностика нарушений развития на экспертном уровне в 11—14 недель. Число женщин, прошедших обследование по пренатальной диагностике нарушений развития в сроке 11—14 недель составило — 96,6%; беремен-

ных, попавших в группу высокого риска по хромосомной патологии плода — 8,8%. Выявлено хромосомной патологии плода — 0,4%, ВПР у плода — 2%, число беременностей, прерванных по результатам пренатальной диагностики — 0,2%.

Таким образом, в условиях женской консультации Перинатального центра созданы условия и эффективно используются мероприятия для периконцепционной профилактики и последующего мониторинга состояния развития плода.

Анализ профиля транскрипционной активности генов, вовлечённых в метаболизм свободных радикалов в клетках периферической крови при хронической обструктивной болезни лёгких

Корытина Г.Ф.^{1*}, Ахмадишина Л.З., Кочетова О.В.¹, Азнабаева Ю.Г.², Загидуллин Ш.З.², Викторова Т.В.^{1,2}

¹ Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, 450054, Пр. Октября, 71;

e-mail: Guly_Kory@mail.ru

² Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, 450000

Одной из причин трудностей в идентификации маркёров ХОБЛ является сложность и гетерогенность данной патологии, наличие различных фенотипов заболевания, каждый из которых может быть связан с особенностями генетической конституции индивида, спецификой экспрессии определенных генов и эпигенетической регуляцией. Во многих исследованиях было показано, что транскриптом клеток крови можно рассматривать как источник информации для оценки тяжести заболевания, контроля эффективности терапии, поиска новых неинвазивных биомаркёров заболевания.

Материалом для исследования служили образцы РНК, выделенные из лимфоцитов периферической крови у больных ХОБЛ с различными фенотипами заболевания (с тяжёлой быстро прогрессирующей формой, со стабильным течением), здоровых индивидов. Профиль экспрессии 84 генов метаболизма свободных радикалов, маркёров окислительного стресса и антиоксидантной защиты с использованием набора RT² Profiler PCR Arrays «Human Oxidative Stress Plus PCR Array» (Qiagen) анализировали в формате 96-луночных планшетов методом ОТ-ПЦР на приборе BioRad CFX96™. Определение относительного уровня мРНК исследуемых генов проводилось с помощью ΔΔCt метода с использованием облачного приложения на сайте производителя (www.qiagen.com).

Установлено, что значимое увеличение TA генов *FTH*, *PRDX3*, *SOD2*, *PTGRI* характерно как для ХОБЛ с быстро прогрессирующей формой, так и для ХОБЛ стабильного течения. При быстро прогрессирующей форме ХОБЛ профиль TA генов окислительного стресса характеризуется значительным снижением, что видимо, указывает на угнетение системы антиоксидантной защиты при частых обострениях. Для ХОБЛ стабильного течения, напротив, характерен профиль с увеличением TA генов *HSPA1A*, *NCF1*, *NCF2*, *PRDX5*, *SIRT2*, *SQSTM1*, *SRXN1*, *TXNRD2*, *LHPP*, *MPO*, играющих ключевую роль в механизмах защиты клеток от повреждения свободными радикалами. В результате проведённого исследования, получены данные указывающие на несомненную роль системы антиоксидантной защиты в патогенезе ХОБЛ. Нами подтверждено предположение, что транскриптом клеток крови может служить чувствительным маркёром прогрессирования заболевания.

Случай сочетанной числовой хромосомной патологии у новорождённого

Костина О.И., Василькова Н.Ю., Лукьянова Т.В., Сосницкая С.В.

ГБУЗ Новосибирской области «Центр планирования семьи и репродукции»

Медико-генетическая консультация
г.Новосибирск, ул. Станиславского, 24
vasilnina@mail.ru

В условиях детского реанимационного отделения генетиком осмотрен ребёнок в возрасте 1 суток, родившийся с множественными врождёнными пороками развития. Из дополнительной информации известно, матери УЗИ I и II скрининг, биохимический скрининг на частые трисомии не проводились. В III триместре по данным УЗИ отмечались синдром задержки развития плода, врождённый порок сердца, гипоплазия мозжечка. Зарегистрирована хроническая фетоплацентарная недостаточность. Роды в сроке 39—40 недель, масса при рождении 1915 г. Состояние при рождении крайне тяжёлое, тяжесть состояния обусловлена врождёнными пороками развития, в том числе жизнеугрожающими, сердечно-сосудистой недостаточностью, неврологической симптоматикой, морфофункциональной незрелостью. Отмечался характерный фенотип для синдрома Эдвардса: микроцефалия, эпикант, микрофтальмия, диспластичные ушные раковины, микростомия, микрогнатия, ультраярная девиация кистей, гиббательная деформация пальцев, пальцы кистей сжаты в кулак, перекрытие вторым пальцем третьего, а пятым пальцем четвёртого, единичная гиббательная складка V пальцев кистей, гипоплазия ногтевых пластинок пальцев кистей и стоп, деформация грудной клетки, короткая грудина, неполное отведение бедер, вальгусная деформация стоп, наружные половые органы сформированы по мужскому типу, гипоспадия, крипторхизм, кожная синдактилия IV, V пальцев стоп. Диагностирован врождённый порок сердца: трёхкамерное сердце, единственный правый желудочек, гипоплазированный, рудиментарный левый желудочек, открытый артериальный проток, двойное отхождение сосудов от правого желудочка, дефект межжелудочковой перегородки. По данным нейросонографии — синдром Денди—Уокера. В первые часы жизни взят кариологический анализ крови. Ребёнок умер на вторые сутки жизни.

Кариологический анализ: 48,XXY, +18. Таким образом, у ребёнка с множественными пороками развития, в том числе и жизнеугрожающими, с выраженной задержкой внутриутробного развития обнаружена сочетанная числовая хромосомная патология: синдром Клайнфельтера и синдром Эдвардса.

Характеристика больных острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) и миелодиспластическим синдромом (МДС) с моносомным кариотипом (МК)

Кострома И.И., Грицаев С.В., Мартынкевич И.С., Чубукина Ж.В., Мартыненко Л.С., Иванова М.П., Абдулкадыров К.М.

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии ФМБА»,
191024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, д.16

Цель исследования: охарактеризовать клинические, морфологические и цитогенетические показатели больных ОМЛ и МДС с МК.

Проведён ретроспективный анализ 43 больных ОМЛ и 33 больных МДС. Использовался стандартный GTG-метод с анализом не менее 20 метафаз. Комплексный кариотип устанавливали при обнаружении ≥ 3 независимых хромосомных aberrаций. Случаи с транслокациями t(8;21) и t(15;17), а также inv(16) были исключены из анализа.

Медиана возраста больных ОМЛ и МДС была 64 (17—84) и 63 (28—81) года соответственно. Количество больных вторичным ОМЛ и МДС было 11,6% и 9,1% соответственно. В группе МДС основная часть случаев характеризовалась избытком бла-

стных клеток в костном мозге (30 больных, 90,9%). Количество моносомий у отдельных больных варьировало от 1 до 4 и не зависело от возраста. Наиболее частыми были моносомии 5 (30,3%), 18 (21,2%) и 7 (15,2%) хромосом. Не выявлено тенденции к более частому обнаружению отдельных моносомий в определённых возрастных группах. Комплексный кариотип верифицирован у 29 больных (87,9%). В группе ОМЛ число моносомий у отдельных больных было в диапазоне от 1 до 7. При этом случаи с ≥ 3 моносомиями были более частой находкой у больных старше 60 лет по сравнению с более молодыми больными: 44,4% и 18,8% соответственно; $p = 0,087$. Наиболее частыми были моносомии 7 (27,9%), 5 (23,2%), 3 (20,9%), 17 (20,9%) и 18 (20,9%) хромосом. Комплексный кариотип верифицирован у 35 больных (81,4%). Медиана общей выживаемости больных МДС и ОМЛ составила 8 и 6 мес. соответственно. Только у 6 больных отмечено относительно благоприятное течение ОМЛ с длительностью безрецидивного периода от 10 до 170 мес. Среди больных МДС кратковременный ответ был зафиксирован только у 2 больных. Более длительный период наблюдения отмечен у 2 больных (20 и 38 мес.) без избытка бластных клеток.

Учитывая низкую эффективность стандартной терапии и невозможность спрогнозировать обнаружение МК, представляется оправданным инициировать лечение больных ОМЛ и МДС после получения результатов цитогенетического исследования.

Магнитно-резонансная томография — современный метод диагностики мышц у больных с наследственными нервно-мышечными заболеваниями

Котов С.В., Бунак М.С., Сидорова О.П.

ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт (МОНКИ), Москва, Россия
KotovSV@yandex.ru

Цель: оценить состояние мышц у больных наследственными нервно-мышечными заболеваниями с помощью магнитно-резонансной томографии (МРТ).

Обследовано 5 взрослых больных наследственными нервно-мышечными заболеваниями в возрасте от 23 до 49 лет. Проводили МРТ мышц конечностей и туловища на аппарате General Electric Optima MR450w GEM с индукцией магнитного поля 1,5Тл в режимах T1 и T2-STIR. При оценке поражения мышц использовалась классификация степени жировой дегенерации мышечной ткани (ЖДМТ): 0 — нормальная мышечная ткань; 1 — начальные проявления феномена «изъеденных молью» мышечных волокон с небольшими участками повышения МР-сигнала; 2а — позднее проявления феномена «изъеденных молью» волокон с многочисленными отдельными участками повышения МР-сигнала с вовлечением до 30% объёма конкретной мышцы; 2б — позднее проявления феномена «изъеденных молью» волокон с многочисленными отдельными участками повышения МР-сигнала с вовлечением от 30% до 60% объёма конкретной мышцы; 3 — проявление размытости и нечёткости из-за слияния не менее трёх областей в одной мышце с повышением МР-сигнала; 4 — последняя стадия дегенерации мышечной ткани, замещение её соединительной и жировой тканями с повышенным МР-сигналом, при этом различимы кольца фасций и нервно-сосудистые пучки.

МРТ мышц было проведено двум больным с плече-лопаточно-лицевой миопатией. У больного 23 лет выявлено поражение широчайшей мышцы спины (слева 1 балл, справа 3 балла), большой круглой мышцы (слева 1 балл, справа 3 балла). У больной 31 года также было зарегистрировано поражение широчайшей мышцы спины слева (2 балла). Также было отмечено вовлечение в патологический процесс мышц бедер и голени. Поражение короткой головки двуглавой мышцы бедра

слева составило 1 балл, длинной головки двуглавой мышцы бедра слева — 3 балла, справа — 2 балла, полусухожильной мышцы слева 3 балла, справа 2 балла, полуперепончатой мышцы слева 3 балла, справа 2 балла, большой приводящей мышцы слева 1 балл. Отмечались изменения передней большеберцовой мышцы и длинного разгибателя пальцев стоп (2 балла). При пояснично-конечностной миопатии у больного 28 лет было выявлено поражение портняжных и тонких мышц бедра (26 балла), мышц голени (2 балла): коротких малоберцовых мышц, латеральных и медиальных головок икроножных мышц. У больного наследственной моторно-сенсорной невропатией (НМСН) 49 лет выявлено поражение передней большеберцовой мышцы (слева 2 балла, справа 3 балла), длинного разгибателя пальцев стопы (1 балл), длинной малоберцовой мышцы (1 балл), камбаловидной мышцы (слева 3 балла, справа 4 балла) латеральной и медиальной головки икроножной мышцы (4 балла). Был обследован больной 26 лет с миотонической дистрофией. Выявлены дистрофические изменения медиальной головки икроножной мышцы (2а).

МРТ мышц является важным методом диагностики поражения мышц при наследственных нервно-мышечных заболеваниях. Выявленные изменения позволяют разрабатывать подходы к лечебной физкультуре, методики нагрузки непо пораженных мышц, а ежегодный контроль позволяет оценить степень прогрессирования заболевания и эффективность лечения.

Репликативный анализ ассоциаций полиморфных маркёров генов, ассоциированных с ожирением при метаболическом синдроме у татар

Кочетова О.В.¹, Ахмадишина Л.З.¹, Корытина Г.Ф.¹, Карпов А.А.², Мустафина О.Е.¹, Хуснутдинова Э.К.¹

¹ Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа
Olga_MK78@mail.ru

² Городская клиническая больница №8

В настоящее время исследование метаболического синдрома (МС) приобрело особую актуальность в связи с высокой скоростью его распространения. В данной работе мы провели репликативный анализ ассоциаций генетических маркёров, выявленных в полногеномных исследованиях антропометрических параметров (объём талии, объём бедер, индекс массы тела (ИМТ)) у женщин татар с МС. В исследовании были использованы образцы ДНК 280 женщин, проживающих в Республике Башкортостан (РБ). Группу женщин с МС составили 130 пациенток (средний возраст $54,14 \pm 6,91$ года). Контрольная группа была представлена здоровыми женщинами с ИМТ до 25 кг/м^2 и средним возрастом $52,92 \pm 7,22$ года. Для анализа ассоциаций с МС мы выбрали 10 полиморфных локусов: *SEC16* rs10913469, *FTO* rs9939609, rs7202116, rs9930506, *MCR4* rs12970134, rs17782313, *TMEM18* rs2860323, rs6548238, *CRP* rs1130864, *LIPC* rs1800588. Генотипирование проводили методом ПЦР в реальном времени с помощью TaqMan проб фирмы «Applied Biosystems» (США) по протоколу производителя на амплификаторе фирмы «Step OnePlus™» (США). Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ: STATISTICA v.6.0 и SNPstats. Статистически значимая ассоциация с риском развития МС была получена с генотипами СТ/ТТ маркёра rs10913469 гена *SEC16*, ОР в этом случае составило 1,65 (СІ95% 1,05—2,59), ($p = 0,028$), аллелем С маркёра rs2860323 гена *TMEM18*, ОР составило 2,22 (СІ95% 1,35—3,55), $p = 0,001$, аллелем Т маркёра rs1130864 гена *CRP*, ОР составило 1,43 (СІ95% 1,04—1,97), $p = 0,026$ и аллелем А маркёра rs9939609 гена *FTO*, ОР составило 1,66 (СІ95% 1,03—2,14), $p = 0,0031$. Анализ клинических и биохимических параметров МС показал ассоциацию повышенного уровня свободного инсулина и уровня белка CRP с маркёром rs1130864 гена *CRP*

($p = 0,009$ и $p = 0,006$ соответственно). Показана ассоциация уровня глюкозы после нагрузки и показателем индекса НОМА-IR для маркера rs1800588 гена *LIPC* ($p = 0,006$) и ($p = 0,03$). Анализ распределения гаплотипов показал ассоциацию гаплотипа AA локусов rs9930506/rs9939609 гена *FTO* с МС OR = 1,47 (CI95%1,02—2,12), $p = 0,03$.

Работа получила частичную финансовую поддержку РГНФ (№13-06-00101) и РФФИ (№13-04-00287а, 14-06-97003 р_Полвольсье).

Семейный случай синдрома Вильямса

Красильников В.В.¹, Прокофьева А.Д.¹,

Пендина А.А.^{1,2}, Агеева В.Б.¹

¹ СПГКУЗ «Диагностический центр (медико-генетический)» Санкт-Петербург, Тобольская ул., 5

² ФГБУ НИИАиГ им. Д.О. Отта СЗО РАМН

Пробанд обратилась в МГЦ в возрасте 16 лет для уточнения диагноза. В возрасте 6 лет у пробанда был выявлен надклапанный стеноз аорты. На момент осмотра: рост 150 см, масса тела 39 кг; признаки «лица эльфа»: пастозные верхние веки, лёгкий эпикант, полные губы; низковатый голос; интеллект снижен до степени дебильности. На основании клинических данных был установлен диагноз: синдром Вильямса (СВ). Повторно пробанд обратилась в МГЦ в возрасте 22 года со II-й беременностью (I — мед. аборт). Брак не был зарегистрирован. По данным впервые проведённого УЗИ плода: срок беременности 23 недели 6 дней; головное предлежание, обвитие пуповины вокруг шеи плода. Был исследован кариотип пробанда — 46,XX. Молекулярно-цитогенетический анализ подтвердил наличие гемизиготной делеции локусов *ELN*, *LIMK1*, *D7S613* в районе 7q11.23. Так как инвазивная пренатальная диагностика СВ на сроке 23—24 недели беременности не была рациональна (с учётом психического статуса пробанда), был рекомендован осмотр ребёнка после рождения. Роды состоялись на сроке 36—37 недель. Параметры ребёнка при рождении: длина тела — 46 см, масса тела — 2010 г, окружность головы — 33 см, окружность груди — 29 см. Пол женский. Оценка по шкале Апгар — 8/9 баллов. Состояние при рождении удовлетворительное. При эхокардиографии было обнаружено персистенция эмбриональной структуры (открытое овальное окно). УЗИ органов брюшной полости, почек и головного мозга данных за пороки развития не выявили. Офтальмолог патологии зрения не обнаружил. В МГЦ дочь пробанда впервые была осмотрена в возрасте 6 мес. Клинически: длина тела — 61 см, масса тела — 5500 г; долихоцефалия, лёгкий экзофтальм на фоне коротковатых глазных щелей, признаки «звездчатости» радужки, гипопластичный укороченный носик с открытыми кпереди ноздрями, форма рта напоминает «лук Купидона»; несколько гипопластичны ногти V пальцев кистей, несколько расширены концевые фаланги пальцев кистей; равная длина II—IV пальцев стоп; поверхностная кожная гемангиома в затылочной области; грубый сердечный шум; наружные гениталии по женскому типу. Голову удерживает, сама не садится. Несколько снижен мышечный тонус.

Уровень общего кальция в крови — 2,65 ммоль/л (при норме до 2,7).

Кариотип дочери пробанда: 46,XX. Молекулярно-цитогенетический анализ выявил гемизиготную делецию локусов *ELN*, *LIMK1*, *D7S613* в районе 7q11.23, что в совокупности с клиническими данными позволило установить диагноз СВ дочери пробанда и дать рекомендации по её наблюдению.

ДНК-диагностика первичной торсионной дистонии с ранним началом

Краснов М.Ю., Абрамычева Н.Ю., Степанова М.С., Шпилюкова Ю.А., Тимербаева С.Л., Иллариошкин С.Н.

ФГБНУ «Научный центр неврологии»,
125367 Москва, Волоколамское ш., 80
merritt.kraut@gmail.com

Первичная торсионная дистония сегодня рассматривается как наследственное заболевание нервной системы, в основе которого лежат конформационные изменения функциональных белков, входящих в состав различных клеточных органелл. К настоящему моменту открыты более 20 различных генов, мутации в которых приводят к развитию первичной дистонии с ранним (до 40 лет) началом. Учитывая чрезвычайно разнообразие наследственных подтипов дистонии и отсутствие чётких клинико-генетических корреляций для большинства форм, ДНК-диагностика имеет принципиальное значение, в том числе для генерализованных вариантов, требующих оперативного лечения (процент успешных исходов операций у пациентов с различными мутациями значительно различается).

Цель работы — разработать диагностический алгоритм для поиска мутаций в локусах, наиболее часто встречающихся в восточноевропейской популяции — *DYT1* (ген *TOR1A*) и *DYT6* (ген *THAP1*); провести клинико-генетическое сопоставления в диагностированных случаях.

Методы — ПЦР в «режиме реального времени» с анализом конкретной точковой мутации — delGAG в гене *TOR1A*; прямое секвенирование кодирующей области гена *THAP1* на лазерно-флуоресцентном капиллярном автоматическом секвенаторе.

В группе из 138 пациентов (возраст дебюта — от 3 до 62 лет) мутация в гене *TOR1A* была обнаружена у 17 пациентов (23,46%). В этой подгруппе возраст начала заболевания составил от 5 до 46 лет, в среднем 12,7 года. Сегментарная форма была отмечена у 10 пациентов (58,8%), генерализованная — у 5 пациентов (29,4%) и фокальная — у 2 (11,8%). В группе из 98 пациентов (более строгие критерии включения — дебют до 40 лет) мутация в гене *THAP1* выявлена в одном случае: замена T142A, ранее ассоциированная с фокальной ларингеальной дистонией с поздним началом, была обнаружена у пациентки с фокальной цервикальной дистонией (дебют в возрасте 28 лет).

Будучи третьим по частоте двигательным расстройством, дистония гетерогенна по своим фенотипическим проявлениям. В то время как фокальные формы встречаются с частотой 29,5 на 1 млн, генерализованные формы в силу редкости (3,4 случая на 1 млн) могут быть расценены как орфанные. Вместе с тем, генерализованные формы часто являются инвалидизирующими и требуют оперативного лечения. Скрининг больших групп больных с различными фенотипическими вариантами позволит сформулировать более чёткие клинико-генетические корреляции, что в дальнейшем может лечь в основу персонализированного подхода к лечению пациентов с первичной торсионной дистонией с ранним началом, включая как консервативные, так и оперативные методы лечения.

Исследование проведено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (соглашение №14.607.21.0094 о предоставлении субсидий).

Анализ распределения молекулярно-генетических маркёров rs4633 и rs7766109 у больных гиперпластическими процессами матки

Кривошей И.В., Алтухова О.Б., Орлова В.С., Батлуцкая И.В.

ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», кафедра медико-биологических дисциплин
308015, г. Белгород, ул. Победы 85
krivoshei.i.v@yandex.ru

Значимость проблемы проблемы гиперпластических процессов матки (миома матки, генитальный эндометриоз, гиперпластические процессы эндометрия) объясняется их высоким удельным ве-

сом в структуре гинекологической заболеваемости. Они имеют общие звенья патогенеза и поэтому достаточно часто встречаются сочетанно.

Цель исследования — оценка распределения полиморфизмов генов катехол-О-метилтрансферазы (rs4633) и фактора свертывания крови XIII (rs7766109) у больных гиперпластическими процессами матки. Группу исследования составили 1889 индивидуумов: 917 пациенток с гиперпластическими процессами матки и 972 женщины контрольной группы. Материалом для исследования послужила венозная кровь в объёме 6 мл, взятая из локтевой вены пробанда. Выделение геномной ДНК из периферической крови проведено методом фенольно-хлороформной экстракции. Исследование полиморфизма проводилось с помощью метода полимеразной цепной реакции с использованием соответствующих праймеров и зондов на амплификаторе IQ5.

Получены следующие результаты. При изучении полиморфизма rs4633 частоты аллелей и генотипов распределились у пациенток с гиперпластическими процессами матки следующим образом: Т — 51,03%; С — 48,97%; ТТ — 25,52%; СТ — 51,03%; СС — 23,45%; у женщин контрольной группы: Т — 51,13%; С — 48,87%; ТТ — 27,37%; СТ — 47,53%; СС — 25,10%. Распределение частот аллелей и генотипов для локуса rs7766109 в группе больных: А — 54,09%; G — 45,91%; AA — 28,13%; GA — 51,91%; GG — 19,96%. В контрольной группе получены следующие генетические характеристики: А — 53,50%; G — 46,50%; AA — 27,78%; GA — 51,44%; GG — 20,78%. При сравнительном анализе частот изучаемых полиморфных генетических маркеров среди больных и в контрольной группе значимых различий не обнаружено.

Работа выполнена в рамках гос. задания №2014/511 «Изучение генетических факторов риска развития мультифакториальных заболеваний человека».

Высокоразрешающая респирометрия в диагностике митохондриальной патологии

Крылова Т.Д., Цыганкова П.Г., Иткис Ю.С., Дадали Е.Л., Захарова Е.Ю.

*ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва, Москворечье, д.1
ameelie@mail.ru*

Митохондриальные заболевания — гетерогенная группа болезней, связанная с нарушением работы дыхательной цепи митохондрий и характеризующаяся мультисистемным поражением, вариативностью возраста манифестации и прогрессирующим течением. Суммарная частота митохондриальной патологии достигает по некоторым данным 1:5000 живых новорождённых.

Большое число заболеваний связано с мутациями мтДНК. Ряд мутаций ассоциированы с определёнными синдромами, для других чёткой корреляции не отмечено. При секвенировании мтДНК могут быть выявлены новые замены, не описанные ранее, патогенность которых неизвестна.

Для оценки работы комплексов дыхательной цепи митохондрий был использован протокол на интактных клетках-фибробластах у пациентов с клиническим диагнозом митохондриальной патологии (n = 4) с использованием высокоразрешающей оксиграфии. Респирометрия проводилась на оксиграфе Oxograph-2k (Oroboros, Austria) с дальнейшей обработкой данных в программе DatLab5.0.

У двух пациентов с ранее выявленными секвенированием новыми мутациями в мтДНК (m.3945 C>A, m.14441 T>C) обнаружены отклонения в параметрах респирометрии: R/E, L/E, netR/E. Высокоразрешающая респирометрия может являться одним из подходов для оценки патогенности обнаруженных мутаций при митохондриальных заболеваниях.

Использование молекулярно-цитогенетического метода при цитогенетическом исследовании в группе лиц с нарушением полового развития

Крюкова Н.М., Шаманова А.В., Сенькина М.В., Рыжкова А.В., Щербакова Е.Г., Матулович С.А.

ГБУЗ «НИИ — Краевая клиническая больница №1 им. профессора С.В. Очаповского»

*Кубанская межрегиональная медико-генетическая консультация, 350086, г.Краснодар, ул.1 Мая, 167
e-mail: kubanmgk@mail.ru*

В КММГК ежегодно обследуется по поводу нарушения полового развития около 100 чел., хромосомная аномалия (ХА) выявляется примерно в 22% случаев. Классические цитогенетические исследования не всегда позволяют поставить правильный диагноз. С 2012 г. в КММГК внедрен молекулярно-цитогенетический метод, позволяющий в ряде случаев уточнить кариотип. Представляем 3 случая ХА у пациентов с нарушением полового развития.

Случай 1. Пациентка 17 лет направлена с диагнозом: задержка умственного, физического и полового развития. Предварительный цитогенетический диагноз: 46,X, idic(X)(p21;p11.2). FISH диагностика подтвердила результат кариотипирования, кариотип: 46,X, idic(X). ishXcen(DXZ1 x 3) (DXZ1 conDXZ1), Ycen(DYZ3 x 0)[100].

Случай 2. Девочка 12 лет, с задержкой физического и полового развития, обследовалась в КММГК в 2009г., обнаружен мозаицизм по числу половых хромосом и клон клеток со структурно изменённой метацентрической хромосомой с идентичными плечами, кариотип: mos45,X[9]/46,X+mar[9]/46,XY[5]. Повторно пациентка обратилась в возрасте 17 лет с диагнозом: синдром Шерешевского—Тернера? Цитогенетически была подтверждена геномная мутация в виде мозаицизма, кариотип: mos46,Xidic(Y) (q12)[6]/46,XY[5]/45,X[5]. FISH диагностика с ДНК зондами на хромосомы X и Y позволила подтвердить idic хромосому и выявить 4-й клон клеток: nuc ishXcen(DXZ1 x 1), Ycen(DYZ3 x 2), Ycen(DYZ3 conDYZ3) [200]/Xcen(DXZ1 x 1), Ycen(DYZ3 x 0)[175] /Xcen(DXZ1 x 1), Ycen(DYZ3 x 1)[100] /Xcen(DXZ1 x 1), Ycen(DYZ3 x 2)[25].

Случай 3. Женщина 25 лет с нарушением оварийно-менструального цикла. При кариотипировании выявлено 2 аномальных клона клеток. В шести из 18 проанализированных метафазах была визуализирована мини-X хромосома в виде кольца размером меньше хромосом группы G. Кариотип после FISH исследования: mos45,X. ishXcen(DXZ1 x 1) [19]/ 46,Xr(X). ishr(X)(DXZ1)[6], и nuc ishXcen(DXZ1 x 1), Ycen(DYZ3 x 0) [150]/Xcen(DXZ1 x 2), Ycen(DYZ3 x 0)[50]. После проведения уточняющей диагностики было выдано следующее цитогенетическое заключение: 45,X[12]/46,Xr(X)(p11.4q21.1)[6]. Продемонстрированные случаи подтверждают значимость современных молекулярно-цитогенетических исследований для диагностики сложных случаев хромосомной патологии.

Диагностические критерии синдрома Беквита—Видемана

Крючкова А.Д.³, Ледящева Т.А.^{1,2}, Гладкова Н.А.^{1,2}, Лязина Л.В.², Биньковская А.В.²

¹ ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова

² СПб ГКУЗ Диагностический центр (медико-генетический)

³ ООО «Покровский банк стволовых клеток», Россия, 194044, Санкт-Петербург, ул.Тобольская, 5
E-mail: dr.kryuchkova@mail.ru

Синдром Беквита—Видемана (СБВ) (МКБ: Q87.3; MIM: 130650; Orpha: ORPHA116) описали J.V.Beckwith (1963) и

H.-R.Wiedemann (1964) в виде триады симптомов: макроглоссия, гигантизм, экзомфалос. Тип наследования предположительно аутосомно-доминантный. Молекулярно-генетическая основа СБВ — дефект в коротком плече хромосомы 11.

Целью работы было уточнение встречаемости больших и малых критериев СБВ в СПб.

Обработана 81 медико-генетическая карта больных СБВ и проведён сравнительный анализ признаков на основании собственных и литературных данных.

Результаты исследования приведены в таблице.

Соотношение встречаемости признаков СБВ на основании собственных и литературных данных

Клинические признаки	Кол-во больных (n = 81)	% встречаемости критериев	
		Собственные данные	Данные литературы
Большие клинические признаки			
Макроглоссия	59	72,84	90—95
Макросомия	58	71,6	50—80
Дефекты брюшной стенки	65	80,25	65
Висцеромегалия	28	34,57	50
Малые клинические признаки			
Гипогликемия неонатальная	16	19,75	30—65
Особенности ушных раковин	60	74,1	30
Гемигиперплазия тела/лица	25	30,86	30—35
"Пылающий" невус на лице	7	8,64	30
Сердечные нарушения	11	13,58	20
Эмбриональные опухоли	5	6,17	5—7,5

Также мы отметили признаки, частота которых не описана в литературе: лицевые дизморфии (39,51%), дисбактериоз (11,1%), экзофтальм (7,5%) и у 9,9% — патологию почек, иммунодефицит и ускорение костного возраста.

Полученные результаты позволяют предположить, что комплекс клинических симптомов может иметь индивидуальные особенности для каждого региона.

Полиморфизм некоторых генов репарации ДНК при раке мочевого пузыря: влияние на риск возникновения и прогрессирование опухолей

Кужир Т.Д., Никитченко Н.В., Савина Н.В., Гончарова Р.И.

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь
T.Kuzhir@igc.bas-net.by

Известно, что накопление повреждений ДНК вносит существенный вклад в канцерогенез на разных его этапах. Восстановление повреждённой ДНК осуществляется репарационными системами. Предполагается, что от эффективности и точности репарации ДНК зависит не только риск возникновения, но и прогрессирование рака. В связи с этим в настоящее время интенсивно изучается ассоциация полиморфных вариантов генов репарации ДНК (в частности, эксцизионной репарации оснований и нуклеотидов) с чувствительностью к онкологическим заболеваниям, и в меньшей степени, — с рецидивированием и прогрессированием опухолей. Эта проблема изучается нами на примере рака мочевого пузыря (РМП). С помощью ПЦР-ПДРФ метода проанализирован полиморфизм генов эксцизионной репарации нуклеотидов *XPB* (rs1799793), *ERCC1* (rs2228526) и оснований *XRCC1* (rs25487), *OGG1* (rs1052133)

в группе пациентов с РМП (336 чел.) по сравнению с контролем (370 чел.). Анализ полиморфизма отдельных генов выявил увеличение риска РМП у носителей гетерозиготного генотипа *XPB* 312 Asp/Asn и его уменьшение у носителей гетерозиготного генотипа *OGG1* 326 Ser/Cys. Рисковая значимость *XPB* 312 Asp/Asn повышалась в старческом возрасте (OR[95%CI] = 3,34 [1,35—8,28] p = 0,009) и проявлялась при комбинации этого генотипа с гомозиготами дикого типа генов *hOGG1* (кодон 326) во всей популяции или *ERCC6* (кодон 1097) у женщин (p = 0,066). Анализ взаимодействия четырёх генов показал, что некоторые комбинации, содержащие *XPB* 312Asn в гетеро- и гомозиготном состоянии, увеличивают риск развития РМП в 3 раза и более. Проанализирована связь указанных полиморфизмов с клинико-морфологическими параметрами опухоли. Обнаружено повышение частоты полиморфного варианта *XPB* 312Asn с увеличением стадии Т во всей выборке пациентов и минорного аллеля *OGG1* 326Cys при рецидивах рака. По-видимому, у носителей этих аллелей увеличивается вероятность прогрессии опухоли в мышечно-инвазивную форму. Таким образом, из четырёх изученных генов эксцизионной репарации выделялся ген *XPB* (кодон 312), полиморфизм которого влиял на канцерогенез, как самостоятельно, так и в сочетании с другими генами репарации.

Генетический гомеостаз на клеточно-популяционном уровне: контрольные точки клеточного цикла

Кузин С.М.

Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И.Евдокимова, Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1
E-mail: smkuzin@mail.ru

В процессе эволюции выработалась эффективная система генетического гомеостаза, компенсирующая постоянную индукцию повреждений ДНК и стабилизирующая геном клеток, организмов и видов. Несмотря на значительные успехи в изучении процессов, происходящих в клетке после возникновения первичных повреждений ДНК, механизмы элиминации клеток с генетическими нарушениями из клеточной популяции остаются во многом непонятными.

Проводимые в последнее время исследования показали, что клетки с повреждениями ДНК задерживаются в контрольных точках митотического цикла, которые имеются во всех его периодах. После успешной репарации они продолжают продвижение по циклу и делятся. Если устранить генетические нарушения не удалось, запускается механизм апоптоза и клетки элиминируются из популяции. Между тем, имеются серьёзные аргументы, свидетельствующие о том, что блокирование в контрольных точках митотического цикла и последующий апоптоз клеток с повреждениями ДНК является не единственным, а, возможно, и не главным механизмом поддержания генетического гомеостаза в клеточных популяциях организма.

Как в наших, так и во многих работах других авторов, показано, что после значительного мутагенного воздействия количество нарушений ДНК и хромосом многократно повышается во всех без исключения клетках. Погибает только часть из них, а среди выживших способны пройти все периоды митотического цикла и поделиться клетки с очень значительными нерепарированными генетическими нарушениями. Доля митозов с абберациями хромосом может достигать 30% и более (в некоторых случаях — до 70%). По нашим данным, клетки с небольшими генетическими нарушениями могут делиться неоднократно, а кинетика их элиминации из клеточной популяции свидетельствует о негативном отборе, механизм которого связан с преимущественным по сравнению с интактными клеткам переходом в дифференцировку после митоза в важнейшей контрольной точке клеточного цикла, названной ранее диофазой (Bullough, 1963). Это позволяет сохранить часть мутантных кле-

ток для полноценного функционирования, хотя в конечном итоге терминальная дифференцировка все равно неизбежно приведет их к гибели и элиминации из клеточной популяции. Сочетание различных механизмов элиминации клеток с генетическими нарушениями из клеточной популяции позволяет не только увеличить эффективность гомеостаза, но и значительно повысить резистентность организмов к мутагенным воздействиям.

Инновационные тест-системы на основе оксида графена — будущая замена современных рутинных методов ДНК-диагностики наследственных заболеваний

Кузнецов А.А., Максимова Н.Р., Александров Г.Н., Смагулова С.А.

Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Якутск

Одним из важнейших направлений развития медицины является генетика, и в частности — ДНК-диагностика. ДНК-диагностика несет в себе задачи по выявлению наследственных заболеваний, вирусных инфекций, геномной паспортизации человека, позволяет осуществлять индивидуальный подбор лекарств и находит широкое применение в современной криминалистике. Стоит упомянуть, что на сегодняшний день, самыми распространенными методами рутинной ДНК-диагностики являются методы на основе ПЦР с полиморфизмом длин рестрикционных фрагментов и флуоресцентные методы по типу ПЦР в режиме реального времени. У данных методов есть как достоинства, так и значительные недостатки, которые снижают потенциал их внедрения в область клинической диагностики. Таким образом, у современных тест-систем, пригодных для рутинной ДНК-диагностики достаточно высокое соотношение цена/качество.

Недавние исследования учёных по всему миру продемонстрировали потенциал применения производных графена при разработке биосенсорных тест-систем для ДНК-диагностики [1]. Опубликованы статьи, в которых разработаны базовые принципы функционирования электрохимических и флуоресцентных тест-систем на основе производных графена для ДНК-диагностики мутаций. Среди вышеперечисленных вариантов особое место занимают флуоресцентные тест-системы на основе оксида графена, которые отличаются от остальных относительной простотой создания, высокой экономической рентабельностью, а также наличием возможности проведения мультипараметрической ДНК-диагностики.

Оксид графена представляет собой слой графена с функционализированной кислородсодержащими группами поверхностью. Он обладает двумя уникальными свойствами: во-первых, оксид графена обладает высокой афинностью к одноцепочечной ДНК, но при этом практически не обладает афинностью к двуцепочечной ДНК. Еще одно интересное свойство оксида графена — это способность тушить флуоресценцию от молекулы находящегося вблизи него флуорофора.

Данные свойства позволяют создавать флуоресцентные тест-системы на основе оксида графена, используя его в виде наноструктурного тушителя флуоресценции, отказавшись от сложных, дорогих и малостабильных молекулярных тушителей, как например, в тест-системах на основе ПЦР в режиме реального времени. В мире пока что не было создано реально работающих тест-систем на основе оксида графена, созданы лишь общие принципы и подходы к их разработке. Данные принципы необходимо дорабатывать для адаптации к внедрению в клиническую диагностику.

Анализ спектра и частоты мутаций в гене *USH2A* у пациентов с синдромом Ушера из Республики Башкортостан

Кузнецов Д.Ю.¹, Джемилева Л.У.¹, Лобов С.Л.¹, Барашков Н.А.^{2,3}, Посух О.Л.^{4,5}, Хидиятова И.М.^{1,6}, Хуснутдинова Э.К.^{1,6}

¹ ФГБУН Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Россия, 450054, г.Уфа, просп. Октября, 71 kuznetsovdy1@gmail.com

² ФГБНУ «Якутский научный центр Комплексных медицинских проблем», Россия, 677010, г.Якутск, Сергеляхское ш., 4

³ ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», Россия, 677000, г.Якутск, ул. Кулаковского, д.46

⁴ ФГБУН Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Россия, 630090, Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 10

⁵ ФГБОУ ВПО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Россия, 630090, г.Новосибирск, ул. Пирогова, д. 2

⁶ ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», Россия, 450076, г.Уфа, ул. Заки Валиди, 32

Синдром Ушера — заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, характеризующееся врожденной сенсорно-невральной тугоухостью от умеренной до тяжелой степени, вестибулярной гипофункцией и медленно прогрессирующим пигментным ретинитом.

Целью исследования являлось изучение структурных особенностей гена ушерина (*USH2A*) у больных с синдромом Ушера (СУ) из Республики Башкортостан (РБ). В работе были использованы образцы ДНК больных с клиническим диагнозом «синдром Ушера» (47 образцов ДНК пациентов и 20 членов их семей).

У пациентов с СУ из РБ выявлено преобладание аутосомно-рецессивной формы заболевания (83%). В изученной выборке больных с СУ из РБ наиболее распространённой мутацией в гене *USH2A* является мутация с.11864G>A (p.Trp3955X) (выявлена с частотой 11%), остальные мутации гена *USH2A*: с.12234_12235delGA (p.Glu4078fs), с.4174G>T (p.Gly1392*) и с.13347delA (p.Glu4458fs, суммарно составляют 4%.

Работа поддержана грантами РФФИ: 12-04-98520-р_восток_а, 14-04-97002-р_поволжье_а, 14-04-97007_р_поволжье_а, 12-04-31230-мол_а, а также проектом Министерства образования и науки РФ ГК №6.656.2014/К

Биобанк Северной Евразии: массовый скрининг популяций и геногеография субвариантов гаплогруппы N1c, выявленных при полногеномном секвенировании

Кузнецова М.А.^{1,3}, Чухряева М.И.^{1,3}, Аджоян А.Т.^{3,1}, Беликова А.В.³, Запороженко В.В.¹, Жабалин М.^{2,3}, Виллемс Р.⁴, Балановский О.П.^{3,1}

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», 115478, Москва, ул. Москворечье, 1

² Центр наук о жизни, Назарбаев Университет, 010000, Казахстан, Астана, пр-т Кабанбай батыра 53

³ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, 119991, Москва, ул. Губкина, 3

⁴ Эстонский биоцентр, 51010, Эстония, Тарту, Puija 236 kiryu70@list.ru

С конца 2013 г. одним из наиболее перспективных инструментов популяционной генетики стал анализ полных сиквенов Y-хромосомы, позволяющий выделять новые высокоинформативные субгаплогруппы. Однако недостаточно выявить новые ветви на древе Y-хромосомы — требуется выявить ареа-

лы их распространения, а для этого необходимо по новым SNP маркерам провести массовый популяционный скрининг для максимально большого числа популяций. Лишь после этого можно уточнять границы между частями генофонда и пути исторических миграций. Проведение эффективного скрининга невозможно без обширных биобанков, объективно представляющих изменчивость генофондов.

Проведённое полногеномное секвенирование образцов гаплогруппы N1c выявило 8 новых субгаплогрупп. Дальнейший скрининг этих субгаплогрупп проведён на основе биобанка, охватывающего ключевые регионы Северной Евразии: охвачено 24 этнических популяции общей численностью более 10 000 чел., для 769 выявленных образцов, принадлежащих к гаплогруппе N1c, проведено генотипирование по 8 новым ветвям.

Картографический анализ полученных результатов выявил высокую географическую специфичность распространения новых субгаплогрупп. В докладе будут продемонстрированы особенности ареалов их распространения и даны датировки возникновения соответствующих субгаплогрупп. В результате одна из самых загадочных гаплогрупп хромосомы Y — N1c, охватывающая единым массивом генофонды самых разнообразных народов Северной Азии от Прибалтики до Чукотки, впервые в мире подразделена на уральский, прибалтийский, северо-европейский, южносибирский, центрально-азиатский, восточно-сибирский, чукотский и амурский ареалы.

Работа поддержана грантом РФФ 14-14-00827.

Определение мутаций *FLT3/ITD*, *NPM1*, *CEBPA* у больных ОМЛ с нормальным кариотипом

Кузнецова С.А., Зарубина К.И., Судариков А.Б., Обухова Т.Н., Паровичникова Е.Н

ФГБУ Гематологический научный центр МЗ РФ, Россия, Москва, Новый Зыковский пр. д.4 svetakuznetsova83@mail.ru

Нормальный кариотип является фактором благоприятного прогноза при ОМЛ. Однако течение заболевания и результаты лечения неоднородны в пределах этой цитогенетической группы, что связано с наличием мутаций в генах *FLT3*, *NPM1* и *CEBPA*. При этом мутации *FLT3* определяют неблагоприятный прогноз ОМЛ.

Цель работы — определить частоту встречаемости мутаций в генах *FLT3*, *NPM1* и *CEBPA* у больных ОМЛ с нормальным кариотипом.

56 первичным пациентам ОМЛ с нормальным кариотипом, 25 мужчин и 31 женщина в возрасте от 20 до 78 лет (средний возраст 51 год) выполнено исследование на наличие мутаций в генах *FLT3*, *NPM1* и *CEBPA*. ДНК из периферической крови и костного мозга выделяли модифицированным солевым методом. ПЦР проводили, как описано F.Nollet, Vrugge и соавт. с небольшими модификациями. Фрагментный анализ выполняли на автоматическом секвенаторе ABIPRISM 3100-Avant («Applied Biosystems»).

Мутации *FLT3/ITD* выявлены в 7 случаях (12,5%), в трёх из них (5,3%) в сочетании с *NPM1*, в одном (1,7%) — с *CEBPA* в домене bZIP; мутации гена *NPM1* в 6 случаях (10,7%), в одном (1,7%) из них в сочетании с *CEBPA* в домене TAD2; мутации гена *CEBPA* в домене TAD2 выявлены в 3 случаях (5,3%), в одном (1,7%) из них в сочетании с мутацией в домене bZIP.

Комплексное цитогенетическое и молекулярно-биологическое исследование при диагностике ОМЛ позволяет более точно охарактеризовать генетическую структуру опухоли и выделять прогностические группы больных для определения терапевтической тактики.

Исследование цитогенетической и мутаген-модифицирующей активности кофеина

Кулакова А.В., Жанатаев А.К., Дурнев А.Д.

ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова» 125315, Москва, ул. Балтийская, д.8 allakulak@mail.ru

Одним из наиболее распространённых соединений, употребляемых человеком с продуктами питания и в качестве лекарственного средства, является кофеин. В связи с этим встает вопрос о его генотоксической безопасности. При всем многообразии исследований, посвящённых цитогенетической и мутаген-модифицирующей активности кофеина, результаты противоречивы.

Цель настоящей работы — комплексное изучение цитогенетических эффектов кофеина при разных режимах обработки с различными индукторами мутагенеза *in vivo*.

Исследование проводили методом учёта хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей-гибридов F₁ CBAxС57Bl/6. Кофеин вводили внутривентрикулярно или интратрикулярно, а в сочетании с мутагенами внутривентрикулярно. Мутагены инъецировали интратрикулярно.

Кофеин в дозах 10 и 100 мг/кг (однократно) и в дозе 10 мг/кг (пять дней) при парентеральном и энтеральном введениях не обладал кластогенной активностью. В сочетании с мутагенами кофеин (1, 10 и 100 мг/кг) не влиял на цитогенетическую активность диоксида (200 мг/кг, в/б) при однократном совместном, предварительном пятидневном или совместном пятидневном введении. При сочетании с другими мутагенами при тех же режимах обработки, кофеин в дозах 10 и 100 мг/кг значимо увеличивал цитогенетический эффект циклофосаида (20 мг/кг) при предварительной обработке животных и в дозе 100 мг/кг значимо ослаблял цитогенетический эффект цисплатина (5 мг/кг) при однократном и повторном совместных введениях.

Таким образом, показано отсутствие у кофеина цитогенетической активности *in vivo* и выявлено разнонаправленное влияние кофеина в области дозирования, значительно превышающих его ежедневное потребление, на проявление цитогенетических эффектов отдельных химических мутагенов при некоторых режимах обработки животных.

Исследование генетических основ генотоксических эффектов воздействия условий труда у работников угледобывающей промышленности Кемеровской области

Кулемин Ю.Е., Минина В.И., Головина Т.А., Рыжкова А.В., Титов Р.А.

ФГБОУ ВПО Кемеровский государственный университет, г.Кемерово Федеральное государственное учреждение науки Институт экологии человека СО РАН, г.Кемерово kulemin_y@mail.ru

Шахтёры в процессе своей деятельности подвергаются многочисленным вредным воздействиям. Неблагоприятные факторы могут выступать в качестве генотоксикантов, т.е. вызывать повреждения ДНК. Наиболее важными системами защиты клеток от мутагенного воздействия являются система антиоксидантной защиты, ферменты биотрансформации ксенобиотиков и ферменты репарации ДНК. Многие гены репарации обладают ярко выраженным полиморфизмом, что позволяет предположить их роль в формировании индивидуальной наследственной чувствительности к мутагенной нагрузке. В связи с вышеизложенным, целью нашей работы является изучение влияния полиморфизма генов на уровень повреждений хромосом у работников горнодобывающей отрасли Кемеровской области. В исследование было включено 130 шахтёров (средний возраст 54,79 года). В качестве популяционного контроля использовали выборку из 118 условно здоровых лиц (средний возраст 50,92 лет), проживающих в г.Кемерово. Изучали частоту хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови и поли-

морфные маркёры в генах: *XPG Asp1104His*, *XPD Lys751Gln*, *ATM Asp1853Asn* и *NBS Glu185Gln*.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Statsoft Statistica 6.0. При сравнении частот генотипов применяли стандартный критерий χ^2 Пирсона.

В группе шахтёров было зафиксировано статистически значимое повышение частоты хромосомных aberrаций в соматических клетках по сравнению со здоровыми донорами ($5,43 \pm 0,24\%$ против $1,12 \pm 0,08\%$, $p = 0,0000001$), что может быть непосредственно связано с неблагоприятным воздействием факторов производственной среды. При исследовании спектра хромосомных aberrаций в зависимости от генотипов генов *XPG Asp1104His*, *XPD Lys751Gln*, *ATM Asp1853Asn* и *NBS Glu185Gln* было установлено, что в группе шахтёров частота aberrантных метафаз была статистически значимо выше у обладателей генотипов *XPG His/His* ($4,9 \pm 0,59\%$) по сравнению с носителями варианта *XPG Asp/His* ($6,45 \pm 0,52\%$, $p = 0,031$), а также *XPD Gln/Gln* ($6,32 \pm 0,34\%$), по сравнению с *XPD Lys/Lys* ($4,47 \pm 0,45\%$, $p = 0,005$). Такие результаты вполне объяснимы тем, что варианты аллели данных генов кодируют ферменты со сниженной способностью к эксцизионной репарации нуклеотидов. Это способно приводить к накоплению хромосомных нарушений.

Исследование проведено при финансовой поддержке государственного задания Минобрнауки РФ №2014/64, программы «УМНИК» по Кемеровской области.

Изучение структурных особенностей гена синдрома Блума (*BLM*) у пациентов с раком предстательной железы

Кунсбаева Г.Б.¹, Гилязова И.Р.², Сафиуллин Р.И.³, Хасанов Э.Х.³, Мустафин А.Т.³, Пушкарев А.М.³, Папоян А.О.³, Султанов И.М.³, Павлов В.Н.³, Хуснутдинова Э.К.^{1,2}

¹ ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет, г.Уфа, ул.Валиди, 32

e-mail: kuncbaevagulnaz@mail.ru

² ФГБУН Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г.Уфа, пр.Октября, 71

³ ГБОУ ВПО Медицинский государственный университет, г.Уфа, ул.Ленина, 5

Рак предстательной железы (РПЖ) является одним из наиболее часто встречающихся злокачественных новообразований мужского населения во всём мире. В 2012 г. в России было зарегистрировано 29 082 новых больных РПЖ. За десятилетний период (с 2002 по 2012 гг.) прирост абсолютного числа заболевших составил 119,6%. В структуре заболеваемости мужского населения России РПЖ занял второе место (12,1%) после опухоли бронхолегочной системы. Известно, что герминальные мутации генов *BRCA2* и *NBS1* приводят к синдромам хромосомной нестабильности с рецессивным типом наследования и предрасполагают к РПЖ, характеризующимся плохим прогнозом. Мутации в гене *BLM* являются причиной другого клинического синдрома — синдрома Блума. Ген *BLM* локализован на хромосоме 15, в области 15q26.1, состоит из 22 экзонов, его протяжённость составляет около 100 т.п.н. Ген кодирует фермент, принадлежащий семейству высококонсервативных ДНК- и РНК-геликаз, которые катализируют АТФ-зависимое расплетение двойной цепи нуклеиновых кислот, важное для основных клеточных процессов, включая репликацию и репарацию ДНК, транскрипцию РНК и трансляцию белков. Белок, кодируемый геном *BLM*, наиболее близок к подсемейству *RECQ*-геликаз. Обнаружено, что мутация *Q548X* в гене *BLM* связана с 6-кратным увеличением риска развития рака молочной железы в России, Белоруссии и Украине, но её роль в этиологии РПЖ исследована недостаточно.

С целью поиска мутаций в гене *BLM* нами проанализировано 53 парных образца ДНК, выделенных из опухолевой ткани простаты и соответствующей ей нормальной ткани неродственных больных с аденокарциномой простаты, проживающих на территории Республики Башкортостан. Все обследованные были пациентами Республиканской клинической больницы им. Куватова и клиники БГМУ г.Уфы. Забор образцов тканей проводился сотрудниками кафедры урологии с курсом ИПО с одобрения этического комитета. В исследуемой группе 45 индивидов (85%) имели начальные стадии заболевания (I—II стадии злокачественного процесса по TNM-классификации) и 8 чел. (15%) — поздние (III—IV) стадии заболевания. Возраст пациентов на момент постановки диагноза варьировал от 45 до 80 лет. У всех обследуемых лиц образцы тканей предстательной железы и крови были получены с их информированного согласия. Геномную ДНК выделяли из парных образцов тканей методом последовательной фенольно-хлороформной экстракции. Мутация *Q548X* в гене *BLM* у пациентов с РПЖ не обнаружена. У одного пациента с РПЖ в гене *BLM* выявлен полиморфный вариант rs28385011 (1,89%), не приводящий к замене аминокислот в белке.

Таким образом, для установления роли мутаций в гене *BLM* необходимы дальнейшие исследования на расширенных группах пациентов с РПЖ и здоровых индивидов.

Оромандибулярной и конечностей гипогенезии синдром, ППС тип. Проблемы дифференциальной диагностики

Курбатов С.А.

АУЗ ВО «Областной клинический консультативно-диагностический центр», г.Воронеж, пл. Ленина 5А
Kurbatov80@list.ru

Оромандибулярной и конечностей гипогенезий синдром (ОКГС, OMIM%103300) — это группа крайне редких заболеваний, включающих сочетания врождённых мальформаций языка и конечностей, в большинстве случаев возникающих спорадически. Клинические проявления ОКГС имеют широкие вариации с перекрывающимися фенотипами. Этиология ОКГС не известна, однако предполагают несколько возможных причин врождённых мальформаций: внутриутробную дизрубцию сосудов, тератогенное воздействие (длительная гипертермия, ионизирующее излучение, лекарственные средства и др.) и не исключена наследственная этиология. Для упрощения диагноза большого списка мальформаций языка и конечностей (синдромов гипоглоссии-гиподактилии, аглоссии-адактилии, Ханхарта, амниотических перетяжек, Мёбиуса, Пьера Робина и др.) Холл предложил в 1971 г. классификацию, обязательно включающую гипоглоссию с делением на 5 подгрупп по степени поражения конечностей. Однако даже такая подробная классификация, в отдельных случаях, не позволяет определить фенотипические границы ОКГС.

Представляю случай 5-летней девочки от здоровых родителей, не состоящих в близкородственном браке, от нормально протекавшей беременности и родов. Во время беременности не зафиксирован приём лекарственных препаратов с тератогенным эффектом, но не исключена возможность приёма алкоголя во время беременности. В семье отсутствуют врождённые аномалии развития у родственников и старшей сестры. Масса и длина тела при рождении низкие — 1700 г и 48 см. В клинической картине: низкий рост (96 см) и вес (12 кг), микроцефалия (46см), умственная отсталость, алалия, плагиоцефалия, гипоглоссия, анкилоглоссия и срединная расщелина твердого и мягкого неба (состояние после оперативной коррекции), неправильный прикус с нормально сформированными зубами, олигодактилия пальцев кистей и стоп, плоский профиль, короткая шея, узкая верхняя губа, низкопосаженные ротирован-

ные кзади ушные раковины, эпикант с двух сторон, нормальное моторное развитие. Хромосомный набор — 46,XX.

По классификации Холла представленный случай можно отнести к ППС типу ОКГС. В доступной литературе, сочетание ОКГС ППС типа с умственной отсталостью, низким ростом и микроцефалией ранее не были описаны, что позволяет рассматривать настоящее клиническое наблюдение как сочетание ОКГС ППС типа с алкогольной эмбриофетопатией.

Наследственные синдромы, включающие патологию органов репродуктивной системы

Курило Л.Ф.¹, Андреева М.В.¹, Сорокина Т.М.¹, Шилейко Л.В.¹, Хаят С.Ш.¹, Черных В.Б., Демикова Н.С.², Козлова С.И.³

¹ ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН, Москва, Москворечье, 1
kurilo@med-gen.ru

² ФГБУ «МНИИ педиатрии и детской хирургии Минздрава России»

³ Российская медицинская академия последипломного образования (РМАПО).

Генетическая патология органов половой системы (ОПС) занимают третье место в структуре заболеваемости человека. Проведён анализ частоты и типа генетической патологии ОПС у 10 133 пациентов (мужчины, женщины и дети), разработаны протоколы медико-генетического обследования. Проведено 532 цитогенетических исследования хромосом пациентов по лимфоцитам крови. Частота носительства хромосомных aberrаций (ХА) составляет около 9% (что совпадает с данными литературы) у пациентов с недостаточностью формирования и/или функционирования ОПС. Из их числа 72% составляют числовые ХА, в основном — у мужчин — синдром Клайнфельтера — 47, XXY, у женщин — синдром Шерешевского—Тернера. Носители структурных ХА составляют 28% от общего числа ХА. Они представлены в основном робертсоновскими или реципрокными транслокациями (62% от общего числа структурных ХА) акроцентрических хромосом (13, 14, 15), триплоидией (по 18 и 21 хромосоме). У мужчин-носителей ХА проведён анализ корреляции между типом ХА и характеристиками сперматогенеза. У 2,5% обследованных выявлено интерсексуальное состояние, связанное с геными мутациями (формы синдрома тестикулярной феминизации и врождённой дисфункции коры надпочечников). У 4,4% мужчин с бесплодием выявлены частые мутации гена *CFTR*. У 15% мужчин с азооспермией и у 8—10% — с олигозооспермией определены микроделеции в локусе *AZF* хромосомы Y. У 19 мужчин и мальчиков выявлен синдром Де ля Шапелля. Цитогенетический анализ гамет позволяет выявить ещё в 4—5% случаев нерасхождение хромосом в гаметах, что, как и определённые формы патологии ультраструктур сперматозоидов, также приводят к мужскому бесплодию. Из 455 наследственных синдромов (НС), описанных в Руководстве Козловой и Демиковой (2007), в 121 НС (27%) встречается патология ОПС. В клинической картине 56 НС из 455 (12%) одним из симптомов со стороны ОПС является крипторхизм; в 23 НС отмечена гипоспадия (5%); в 18 НС (4%) — сочетание крипторхизма с гипоспадией; в 41 НС (9%) отмечено нарушение развития гонад. На практике, значительную часть случаев ВПР ОПС упускают и ВПР регистрируют лишь при выявлении нарушения функции ОПС (с периода полового созревания).

Молекулярно-генетическая диагностика X-сцепленной аденолейкодистрофии у российских пациентов

Куркина М.В.¹, Руденская Г.Е.¹, Михайлова С.В.², Малахова В.А.¹, Захарова Е.Ю.¹

¹ ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН, Москва, ул., Москворечье, д. 1, 115478
kurkina_marina87@mail.ru

² ФГБУ Российская детская клиническая больница, Москва

Аденолейкодистрофия (ALD, X-ALD, OMIM 300100) — прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, характеризующееся клиническим полиморфизмом. Мутации в гене *ABCD1* приводят к дисфункции ALD белка, который принимает участие в расщеплении насыщенных ОДЦЖК в пероксисомах. *ABCD1* картирован в терминальном сегменте длинного плеча хромосомы X, локус Xq28. Ген *ABCD1* кодирует трансмембранный белок ALDP, который относится к суперсемейству трансмембранных белков-транспортёров, характеризующихся наличием АТФ-связывающей кассеты. Биохимическая диагностика X-ALD основана на определении концентрации ОДЦЖК и их соотношений: C26, C26/C24 и C26/C22. В лаборатории наследственных болезней обмена веществ ФГБУ «МГНЦ» РАМН диагноз X-ALD был верифицирован биохимическими и/или молекулярно-генетическими методами в 119 неродственной семье. Суммарно было обследовано 143 больных мужского пола с манифестацией X-ALD в возрасте от 3—36 лет. Соотношение выявленных фенотипов следующее: ДЦ АЛД — 115 (67,8%), ЮЦ АЛД — 16 (11,2%), АМН — 18 (16,1%), ИНН — 5 (3,5%), БС АЛД — 2 (1,4%). Также обследованы 24 клинически здоровых родственников мужского пола и 70 здоровых женщин: матерей и других родственниц, — несомненных или возможных гетерозиготных носительниц. В 67 семьях использованы оба вида лабораторной диагностики, в 46 — только биохимическая. Спектр мутаций при X-ALD отличается большим разнообразием. В 67 семье выявлено 60 мутаций, из которых 32 были зарегистрированы ранее, 28 обнаружены впервые. У 142 пациентов мутации были в гемизиготном состоянии, у одного пациента мужского пола мутация была в гетерозиготном состоянии. При исследовании кариотипа у пробанда был подтверждён синдром Клайнфельтера. В литературе не было ранее описано подобных случаев.

Молекулярно-генетические предикторы эффективности терапии больных хроническим миелоидным лейкозом

Лавров А.В.^{1,2}, Адильгереева Э.П.¹, Смирнихина С.А.¹, Челышева Е.Ю.³, Шузов О.А.³, Туркина А.Г.³, Куцев С.И.^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр» Российской академии медицинских наук, Москва
avlavrov@yandex.ru

² Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Гематологический научный центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

Хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ) — распространённое онкогематологическое заболевание, возникающее в результате транслокации в стволовой кровяной клетке. Слияние двух хромосом — t(9;22)(q34;q11.2) — формирует химерный ген *BCR-ABL*, обладающий неспецифической тирозинкиназной активностью. Применяемые более 10 лет ингибиторы тирозинкиназ (ИТК) позволили добиться значительных успехов в контроле и лечении ХМЛ. Однако, по разным оценкам, от 10 до 25% пациентов отвечают на терапию ИТК неудовлетворительно, развивая так называемую первичную резистентность к ИТК.

Цель работы — методом полноэкзомного анализа выявить потенциальные прогностические молекулярно-генетические

маркёры глубины ответа опухоли на терапию ИТК. Для этого были отобраны 4 чел. с оптимальным ответом на терапию ИТК и 4 чел. — с неудачей терапии. Эффективность терапии определяли через 6 мес. лечения: устойчивость к терапии — *BCR-ABL* >1% от начального уровня экспрессии химерного гена и/или цитогенетический ответ >10% метафаз, содержащих Ph-хромосому, а оптимальный ответ на терапию при *BCR-ABL* <1% и цитогенетический ответ 0%. Экзомное секвенирование провели с использованием набора для обогащения экзона и оборудования Ion PGM (LifeTechnologies) в соответствии с рекомендациями производителя.

Анализ полученных данных выявил однонуклеотидных вариантов в 11 генах (*ANKRD35, FCRL3, ATP7B, IGHV4-3I, ANPEP, DNAH9, CCDC165, LRP2, FANCD2, KLB, MAGEC1*) в группе пациентов, достигших оптимального ответа, и в 3 генах (*MORN2, TMX4, PTCRA*) в группе пациентов с неудачей терапии.

Обнаруженные варианты могут являться генетическими маркёрами эффективности терапии ИТК при ХМЛ.

Популяционно-генетические аспекты распространённости заболеваний сердечно-сосудистой системы у коренных народов Юга Западной Сибири

Лавряшина М.Б., Ульянова М.В., Тхоренко Б.А., Дружинин В.Г.

ФГБОУ ВПО Кемеровский государственный университет
Россия, г.Кемерово, ул. Красная, 6
Lmb2001@mail.ru

Структура и уровень распространённости заболеваний сердечно-сосудистой системы среди различных групп населения имеет территориальную, возрастную и этническую специфику. Обсуждаются результаты исследования распространённости артериальной гипертензии (АГ) и ишемической болезни сердца (ИБС) в локальных популяциях коренных малочисленных народов — шорцев и телеутов, с параллельным анализом характера распределения полиморфных вариантов генов *ACE* (I/D), *VEGF* (G634C), *PPARGC1a* (Gly482Ser), *PPARGC1b* (Ala203Pro). Обследованию охвачены места компактного расселения шорцев и телеутов на юге Западной Сибири — в Кемеровской области (таблица). Генотипирована ДНК 327 чел.

Анализ данных официальной медицинской статистики — таблиц заболеваемости в действующей редакции Международной статистической классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем (МКБ-10) — выявил статистически значимые различия распространённости АГ и ИБС, как при сравнении двух этнических групп, так и в зависимости от географического положения локальных популяций (шорцы).

Частота заболеваемости АГ и ИБС в популяциях шорцев и телеутов

Заболевание	Группа		
	Шорцы		Телеуты Беловский р-н ⁽³⁾
	Таштагольский р-н ⁽¹⁾	Междуреченский р-н ⁽²⁾	
АГ	23,81 ± 9,29 ²	46,94 ± 5,04 ^{1,3}	29,91 ± 4,43 ²
ИБС	4,76 ± 4,65 ²	24,49 ± 4,34 ^{1,3}	11,21 ± 3,05 ²

Примечание. Верхний правый индекс показывает статистически значимые различия (критерий Стьюдента, P<0,05) между группами

Исследование генетической структуры локальных популяций шорцев и телеутов по выше обозначенной генетической панели продемонстрировало своеобразие генетического профиля исследованных групп. Так, среди шорцев Таштагольского

р-на достоверно чаще (0,708, P≥0,05) регистрировался аллель I по гену *ACE* (ALU-полиморфизм), оказывающий протективное действие по отношению к риску развития АГ.

Проведённое исследование выявило взаимосвязь между генетической структурой популяций коренных народов и распространённостью у них ряда заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ №13-06-98014р и Государственного задания Минобрнауки №2014/64

Ассоциации генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков с предрасположенностью к формированию дефектов перегородок сердца мультифакториального генеза

Лазарев К.Ю., Брайко О.П., Голубцов В.И.

Кубанский государственный медицинский университет,
Краснодар, ул.Седина, 4
lazarev_ku@mail.ru

Врождённые пороки сердца (ВПС) в структуре врождённых пороков развития занимают ведущее место причин инвалидности — 27,7% [Минайчева Л.И. и соавт., 2008]. Частота изолированных ВПС в России в среднем составляет 3,88—9,2‰ [Антонов О.В. и соавт., 2005; Андреева Л.П. и соавт., 2006; Минайчева Л.И. и соавт., 2008], а в Краснодарском крае — 7,96‰. Наибольший удельный вес в структуре ВПС связан с дефектами межжелудочковой (ДМЖП) — 51,8% и предсердной (ДПП) 16,7% перегородок сердца [Лазарев К.Ю. и соавт., 2011].

Проведён анализ ассоциации полиморфизма генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков (ФБК) с развитием врождённых ДМЖП и ДПП сердца. Объектом исследования были дети с ДМЖП (100 чел.) и ДПП (45 чел.) из Краснодарского края, русской национальности и группа контроля (210 здоровых индивидов). ДНК выделяли из замороженной крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование полиморфизмов генов ФБК Val432Leu *CYP1B1*, G590A *NAT2*, C3435T *ABCBI*, A1075C *CYP2C9*, T664C *CYP3A4*, +6986G/A *CYP3A5* проведено методом полимеразной цепной реакции в амплификаторе CFX96 Bio-rad в режиме реального времени.

При оценке взаимодействия генов ФБК были выявлены статистически значимые ассоциации парных сочетаний генотипов, из них для ДМЖП выявлены три прогностически неблагоприятные комбинации: *CYP1B1* 432GG x *NAT2* 590GA, *CYP1B1* 432AA x *ABCBI* 3435TT, *CYP3A4* 664TT x *CYP3A5* 6986AA (OR>1) и одна протективная *CYP2C9* 1075AA x *CYP3A4* 664TC (OR<1); для ДПП — одна прогностически неблагоприятная: *CYP1B1* 432GG x *NAT2* 590GG (OR>1) и одна протективная комбинация *NAT2* 590GG x *ABCBI* 3435TT (OR<1).

Данные маркёры целесообразно использовать при разработке модели индивидуального прогнозирования риска формирования ДМЖП и ДПП в эмбриогенезе и внедрены для проведения персонализированной преемственной профилактики ВПС как в семьях с отягощённым анамнезом, так и в любой супружеской паре, планирующей беременность.

Аудиологическое обследование детей и предпосылки для скрининга новорождённых на частые мутации в гене *GJB2*

Лалайца М.Р.¹, Маркова Т.Г.^{1,3}, Близнец Е.А.², Чибисова С.С.^{1,3}, Поляков А.В.², Таварткиладзе Г.А.^{1,3}

¹ ФГБУН «Российский научно-практический центр аудиологии и слухопротезирования ФМБА России», Москва, 117513, Ленинский пр., 123

marika_raph@mail.ru

² ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»,
Москва, 115478, ул. Москворечье, 1

³ ГБОУ ДПО Российская медицинская академия последипломного образования МЗ РФ

Врожденная двусторонняя сенсоневральная тугоухость (СНТ) тяжелой степени встречается с частотой 1 на 1000 новорожденных. Ребенку с врожденной двусторонней СНТ для нормального психоречевого развития необходимо раннее выявление и раннее начало реабилитационных мероприятий. Своевременным для диагностики врожденной тугоухости считается возраст 3 мес., для начала реабилитации — возраст 6 мес. В России с 2008 г. внедрён универсальный аудиологический скрининг новорожденных, основанный на регистрации отоакустической эмиссии (ОАЭ) в роддоме и/или в поликлинике на 4–6-й неделе жизни. При отсутствии ОАЭ хотя бы с одной стороны ребёнок направляется на консультацию сурдолога и полное аудиологическое обследование в возрасте 3–6 мес.

В ФГБНУ РНПЦ аудиологии и слухопротезирования при подтверждении двусторонней СНТ у ребёнка по результатам полного аудиологического обследования и при отсутствии синдромальных признаков проводится исследование гена *GJB2* в ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», г. Москва. Материалом для анализа служит буккальный эпителий ребёнка.

В результате генетического обследования 264 младенца с двусторонней несиндромальной СНТ мутации в гене *GJB2* были выявлены у 182 (69,0%) детей, у 171 (64,8%) были выявлены мутации в обоих хромосомах. Причём у каждого третьего ребёнка с *GJB2*-обусловленной тугоухостью в анамнезе было 2 и более факторов риска приобретённой тугоухости. У 64% детей не было родственников с нарушением слуха. Таким образом, опираясь лишь на данные анамнеза, наследственная природа тугоухости могла быть упущена. Кроме того, в результате универсального аудиологического скрининга новорожденных выявляются не все дети с врожденной тугоухостью.

Представленные данные указывают на необходимость проведения сочетанного аудиологического и генетического скрининга.

Молекулярно-генетический анализ пациентов с болезнью Помпе

**Ларшина Е.А.¹, Байдакова Г.В.¹, Михайлова С.В.³,
Никитин С.С.², Пичкур Н.С.⁴, Ольхович Н.В.⁴,
Семякина А.Н.⁵, Букина Т.М.¹, Захарова Е.Ю.¹**

¹ ФГБНУ Медико-генетический научный центр,
115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1
proskurinaelena1989@yandex.ru

² Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия

³ ФГБУ «Российская детская клиническая больница» Минздрава России, Москва

⁴ Центр Метаболических заболеваний, НДСБ «ОХМАТДЕТ», Киев, Украина

⁵ Обособленное структурное подразделение — НИКИ педиатрии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва

Болезнь Помпе (БП) — аутосомно-рецессивное заболевание, относящееся к лизосомным болезням накопления (гликогенотип II). Данное заболевание обусловлено мутациями структурного гена *GAA*, кодирующего лизосомную α -1,4-глюкозидазу. Ген картирован на длинном плече хромосомы 17, в локусе q25.2-q25.3 и состоит из 20 экзонов. Фермент α -1,4-глюкозидаза (кислая мальтаза) участвует в гидролизе гликогена. Недостаточность кислой мальтазы ведет к отложению негидролизованного гликогена в лизосомах мышц (сердечной и скелетных), что сопровождается картиной прогрессирующей мышечной дистрофии.

При проведении селективного скрининга (1521 пациент) на шесть лизосомных ферментов с помощью МС/МС (Electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS/MS)) у 11 чел. было обнаружено снижение активности фермента α -1,4-глюкозидазы в высушенных пятках крови $0,40 \pm 0,25$ (0,01–0,81), норма 1–25 мкМ/л/ч ($9,1 \pm 5,2$). При проведении молекулярно-генетического анализа гена *GAA* у 11 пациентов диагноз *болезнь Помпе* был подтверждён: 7 больных с ранним дебютом и 4 с поздним дебютом. Из 22 аллелей было выявлено 16 различных мутаций: три повторяющиеся, которые, возможно, являются частыми для российских пациентов — с.-32-13T>G (3/22 аллелей), с.1655T>C (2/22 аллелей) и с.307 T>G (2/22 аллелей). У двух пациентов были обнаружены мутации в гомозиготном состоянии: с.525delT (инфантильная форма) и p.Gly334Ser (ювенильная форма), выявленные в семьях, где родители пробандов состояли в близкородственном браке. У 9 пациентов были выявлены ещё 14 мутации, 10 из которых описаны ранее. Три неописанные мутации: с.2077_2078dupA, с.1379_1380insC-GA и с.1951_1952delG GinsT связаны с тяжелой формой и инфантильным началом БП. Также был определен вариант с.2799+4A>G, патогенность которого доказана на уровне кДНК. Данное изменение выявлено в компаунд-гетерозиготном состоянии с мутацией с.743T>C (p.Leu248Pro) и обнаружено у двух родных братьев с поздним началом и крайне мягкой формой БП.

В нашей группе пациентов тяжесть проявления заболевания коррелирует с характером мутаций в гене *GAA*, в связи с чем анализ генотипа при БП является важным инструментом для прогнозирования клинического течения заболевания.

Архитектура генома и хромосомные болезни

**Лебедев И.Н., Кашеварова А.А.,
Скрябин Н.А., Назаренко Л.П.**

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской генетики», г.Томск
e-mail: igor.lebedev@medgenetics.ru

Традиционная классификация наследственных болезней на хромосомные, моногенные и полигенные/многофакторные с прогрессом в познании структурно-функциональной организации генома человека пополняется списком новых генетически детерминированных заболеваний, которые имеют определённую специфику типов мутаций, механизмов их возникновения и наследования в ряду поколений и в ходе онтогенеза, а также особенностей клинического проявления, часто отклоняющихся от законов менделевской генетики. К категории таких болезней, связанных с нарушениями архитектуры генома, относят заболевания, обусловленные изменчивостью числа копий крупных блоков ДНК (Copy Number Variations); микроделеционные и микродупликационные синдромы, обусловленные сегментными дупликациями генома; наследственные синдромы, связанные с динамическими мутациями; болезни, возникающие вследствие мутаций в соматических клетках; эпигенетические заболевания, обусловленные нарушениями регуляции функций генов (болезни геномного импринтинга, хроматиновые заболевания). Расшифровка молекулярных механизмов возникновения некоторых категорий таких заболеваний привела к открытию феномена реципрокности генетических и эпигенетических мутаций (микроделеции и микродупликации одних и тех же хромосомных регионов, фланкированных сегментными дупликациями; полярные изменения характера метилирования ДНК в том или ином геномном локусе), проявляющиеся формированием гаплонедостаточности или гаплотрипличности. Систематизация клинических эффектов, обусловленных реципрокными изменениями дозы генов, позволила выделить 4 категории фенотипов: зеркальные, перекрывающиеся, идентичные и уникальные. В проводимом нами молекулярно-цитогенетическом скрининге пациентов с недифферен-

цированными формами умственной отсталости и задержкой развития с использованием микрочипов высокого разрешения показано, что частота клинически значимых реципрокных CNV, ассоциированных с сегментными дупликациями генома, достигает 10%. Кроме того, нами впервые описаны пациенты с реципрокными микроделециями и микродупликациями 3p26.3, затрагивающими единственный ген *CNTN6*, вовлечённый в формирование аксонных взаимодействий при развитии центральной нервной системы (Kashevarova et al., Mol Cytogen. 2014). Для анализа эффектов данных мутаций на молекулярном и клеточном уровне получены линии пациент-специфичных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ №14-15-00772.

Выявление и функциональный анализ регуляторных SNPs, связанных с развитием рака толстого кишечника

Леберфарб Е.Ю.^{1,2}, Брызгалов Л.О.¹, Брусенцов И.И.¹, Дягтерева А.О.², Меркулова Т.И.¹

¹ Институт Цитологии и Генетики СОРАН, г.Новосибирск, пр. Лаврентьева, 10

² ГБОУ ВПО НГМУ Минздрава России, г.Новосибирск, Красный просп., 52
Leberfarb@mail.ru

В последние годы в связи с развитием высокопроизводительных методов секвенирования наблюдается стремительный рост объёма информации о насыщенности геномов SNPs. Наряду с этим, существует проблема выбора SNPs, ассоциированных с конкретными заболеваниями. Особенно это актуально для SNPs, расположенных в некодирующей части генома (rSNPs). Целью работы являлось обнаружение rSNPs, связанных с развитием рака толстого кишечника, выявленных на основании анализа полногеномных данных о скоплении сайтов связывания транскрипционных факторов (Bryzgalov et al., 2013).

В работе использовались депонированные в SRA-архивах NCBI данные более 600 экспериментов ChIP-seq, RNA-seq, ChIA-pet для более чем 40 различных образцов опухолей толстого кишечника и клеточных линий колоректального рака. Было выявлено 38315 полиморфизмов в регуляторных областях генома. Поскольку SNPs могут влиять на связывание транскрипционных факторов, было отобрано 21 060 SNPs с выраженной асимметрией представленности аллелей в преципитатах ChIP-seq. В дальнейший анализ брали впервые выявленные полиморфизмы, а также SNPs с частотой встречаемости аллелей в опухолевых образцах, значительно отличающейся от частоты встречаемости в популяции по данным dbSNP NCBI (6651 SNPs). Для проверки адекватности выбранных порогов, используемых для идентификации SNPs, проводили экспериментальную проверку. Из предсказанных полиморфизмов на клеточной линии колоректальной карциномы HCT116 были отсекарованы 16 SNP методом прямого секвенирования по Сенгеру. Подтверждена гетерозиготность 15 из них. Для определения функциональной значимости SNPs расположенных в промоторной области (± 1 kb), были проанализированы данные RNA-seq и отобраны гены с асимметричной экспрессией аллелей. Для полиморфизмов, расположенных в отдалённых областях мы использовали данные ChIA-PET для выявления генов, на экспрессию которых они могут оказывать влияние. В результате было отобрано 23 SNPs способных влиять на экспрессию генов. Таким образом, продемонстрирована эффективность выбранного подхода для выявления потенциально регуляторных SNPs и оценки их функциональной значимости.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №15-04-05780 А.

Аспекты клинического полиморфизма нейрофиброматоза I типа

Ледашева Т.А.^{1,2}, Кинунен А.А.^{1,2}, Афанасьев А.П.¹

¹ ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова

² СПб ГКУЗ Диагностический центр (медико-генетический)

³ ГБОУ ВПО СПб ГПМУ

Россия, 194044, Санкт-Петербург, ул. Тобольская, 5

E-mail: ledasheva@mail.ru

Нейрофиброматоз I типа (НФ1) (Син.: болезнь Реклингхаузена) (ММ: 162200; МКБ-10: Q.85.0) — наиболее частая моногенная патология из группы эктодермальных дисплазий. Характеризуется аутосомно-доминантным типом наследования, высокой пенетрантностью, варьирующей экспрессивностью мутантного гена и высокой частотой — 1 : 2500—3000 среди новорождённых. Ген *NF1* картирован на длинном плече хромосомы 17 (17q11.2).

Цель — определить частоту клинических признаков и встречаемость в популяции классической, неполной, abortивной форм НФ1 и нейрофибром вне симптомокомплекса.

Обследовано 729 больных из 479 семей с НФ1. Диагноз выставлялся в соответствии с Международной классификацией (1985) и применением клиничко-неврологических, лучевых, молекулярно-генетических, инструментальных, лабораторных методов.

Ведущими проявлениями НФ1 являлись кожные изменения (98,2%) в виде кофейных пятен (97,1%) и кожно-подкожных нейрофибром (47,1%). Патология костной системы диагностирована у 96% больных и была представлена дефектами скелета (76,5%), задержкой роста и костного возраста (65,9%), изменениями в нижних конечностях (9,2%). Также значимым признаком НФ1 была дисплазия соединительной ткани (99,4%); от выраженных (23,7%) до умеренных (75,7%) проявлений. Изменения глаз (75,2%) представлялись миопией и астигматизмом (73,3%), атрофией дисков зрительных нервов (11,2%), перераспределением пигмента на периферии (11,7%), меланоцитарными гамартомами радужки (7,3%), опухолями области орбиты и век (2,8%). Патология нервной системы отмечена у 36,5% и выявлялась в виде ВСД (51,6%), ЗПМР (27,3%), эписиндрома (16,4%), ДЦП (4,8%). С убывающей частотой наблюдались заболевания сердечно-сосудистой системы (27,4%), почек (21,7%), ЖКТ (15,7%), эндокринной системы (15,1%), органов слуха (1,6%). Таким образом, с учётом комплексного обследования у 97,9% была диагностирована классическая форма НФ1, атипичные варианты составили 2,1%.

Отмечена вариабельность частоты встречаемости клинических симптомов НФ1. Полученные данные явились основанием для разработки дополнительных критериев диагностики НФ1 у пробандов и их родственников.

Случай раннего выявления трёх моногенных заболеваний у одного пациента с помощью генетического скрининга «Этноген»

Литвинова М.М.^{1,2}, Балашова М.С.^{1,2}, Рослова Т.А.², Жегулина С.Г.²

¹ ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, ул. Трубецкая, д.8, стр.2

² ООО «Центр генетики и регенеративной медицины Института стволовых клеток человека», Москва, ул. Губкина, д.3, корп.1
LitvinovaMM@hsci.ru

Современная медицина максимально ориентирована на профилактику заболеваний, т.к. именно раннее выявление патологии позволяет предотвратить её грозные осложнения. В связи с этим в медицинской генетике все большую актуальность приобретает генетический скрининг, как инструмент ранней диагностики и своевременной профилактики моногенных болезней. Для того

чтобы генетическая панель обладала максимальной эффективностью её состав должен быть адаптирован к генетической специфике популяции. В связи с назревшей необходимостью Институтом стволовых клеток человека совместно с Медико-генетическим научным центром РАМН был разработан генетический профиль «Этноген», куда вошли наиболее частые мутации в генах 60 максимально распространённых среди жителей России моногенных заболеваний. Для проведения скрининга был выбран метод ДНК-микроматриц с использованием технологии удлинения олигонуклеотидов, так называемая реакция APEX (англ. APEX — arrayed primer extension). В целом, по результатам профилактического обследования 336 чел. в 8,6% случаев выявлен генотип, свидетельствующий в пользу постановки диагноза моногенного заболевания. 51% обследуемых оказались гетерозиготными носителями от 1 до 3 мутаций в генах аутосомно-рецессивной патологии.

Ниже следует описание уникального случая сочетания сразу трёх наследственных патологий у одного пациента, выявленных с помощью скрининга «Этноген». Пробанд — девочка 5 лет, родилась недоношенной на сроке беременности 33 недели, с весом 1200 г, ростом 39 см. Родители кровное родство отрицают. Психомоторное развитие пациентки по возрасту. С рождения обращала на себя внимание сухость кожи с шелушением в виде чешуек белого цвета. С 4 мес. — диагноз «атопический дерматит», проявляется склонность к аллергическим реакциям. С трёх лет — повышение уровня АЛТ и АСТ в пределах 3N и 4N соответственно. В 5 лет — пневмония с пневмотораксом. На биопсии — морфологические признаки хронического гепатита с минимальной гистологической активностью и выраженным фиброзом. Направляющий диагноз: хронический гепатит неуточнённой этиологии. В ходе тестирования по программе «Этноген» в гене *HFE* (наследственный гемохроматоз I типа) обнаружена мутация His63Asp (с.187C>G) в гомозиготной форме, в гене *SERPINA1* (дефицит альфа-1-антитрипсина) — мутация Glu342Lys в гомозиготной форме, в гене *FLG* (вульгарный ихтиоз) — мутация с.2282del4 в гетерозиготной форме. Таким образом, у девочки верифицировано 3 моногенных заболевания, что позволило незамедлительно назначить ей эффективную терапию и разработать комплекс профилактических мер по предупреждению ряда осложнений. Родителям пробанда разъяснены риски повторного рождения больного ребёнка. В настоящее время семья готовится к проведению преимплантационной генетической диагностики.

Клональная эволюция опухоли молочной железы в процессе неoadъювантной химиотерапии

*Литвяков Н.В.^{1,2}, Ибрагимова М.К.¹, Цыганов М.М.^{1,2},
Иваньковская П.В.¹, Слонимская Е.М.¹,
Чердынцева Н.В.^{1,2}*

¹ Томский НИИ онкологии,
Россия, г.Томск, пер. Кооперативный, 5, 634050
² НИ Томский государственный университет,
Россия, г.Томск, пр. Ленина, 36, 634050
E-mail: nvlitv72@yandex.ru

Клональный состав гетерогенной опухоли может меняться при воздействии химиопрепаратов, обладая мутагенным эффектом они могут вызывать образование структурных и числовых хромосомных aberrаций в опухолевых клетках [N. Navin et al., 2011]. При помощи микроматричного анализа было проведено исследование клональной эволюции опухоли молочной железы в процессе неoadъювантной химиотерапии (НАХТ).

В исследование включены 26 больных раком молочной железы, которым проводили НАХТ. Эффективность НАХТ оценивали по критериям ВОЗ и оценивалась 5-летняя безметастатическая выживаемость. ДНК выделяли из биопсийных образцов опухолевой ткани до лечения и операционных образцов этих же больных после НАХТ. Для исследования клональной эволюции сравнивали генетический ландшафт опухоли по aberrациям числа копий

(CNA) каждого пациента до лечения и после НАХТ. Для этого проводили SNP-аrray микроматричный анализ ДНК на чипах Affymetrix (USA) CytoScan™ HD Array.

Установлено, что изменение частоты CNA в процессе химиотерапии и числа мутантных клонов прямо коррелируют с эффективностью НАХТ ($r = 0,54-0,72$, $p < 0,05$). В процессе НАХТ у 50% (13/26) больных уменьшалось количество мутантных клонов (вплоть до полной элиминации: 1 случай полной генетической регрессии опухоли), в 19% случаев (5/26) химиотерапия не оказывало никакого влияния на количество мутантных опухолевых клонов и частоту CNA, наконец, у 31% (8/26) пациентов наблюдались случаи появления в процессе НАХТ новых мутантных клонов. У всех восьми пациентов это были мутантные клоны, которые сохранили делеционные аномалии, а у пяти пациентов также появились клоны с новыми протяжёнными амплификациями и у них было отмечено развитие гетерогенных метастазов (по методу Каплана—Майера, Log-rank test $p = 0,0000001$, по сравнению с больными у которых не появлялись новые амплификации).

Можно полагать, что микроматричные исследования могут стать способом количественной и качественной оценки эффективности НАХТ.

Работа поддержана грантом РФФИ 15-04-03091 и программой повышения конкурентоспособности НИ ТГУ.

Фармакогенетическое тестирование в практике кардиолога

Лифшиц Г.И., Кох Н.В.

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины
г.Новосибирск, 630090 Лаврентьева, 8
gl62@mail.ru*

Применение новых технологий фармакогенетики расширяет возможности современной медицины, позволяя персонализировать подход к пациенту.

На основании данных, полученных нами, в ходе участия в национальном многоцентровом исследовании «Варфарен» по сравнению эффективности эмпирического и генетического подбора дозы непрямых антикоагулянтов российским пациентам, подбор дозы варфарина на основании генотипирования *VCORC1*-1639 G>A, *CYP2C9**1/*2/*3 по сравнению со стандартным алгоритмом приводит к сокращению срока, требующегося для подбора индивидуальной дозы, в среднем на 5 дней ($p = 0,001$). Генотипирование *Cyp2C9* позволяет выявить пациентов с высоким риском нестабильности МНО на протяжении всего периода терапии варфарином и, как следствие, высоким риском осложнений. Так, у пациентов с наличием «медленных» аллелей *2 или *3 *Cyp2C9* индивидуальная ежедневная доза в течение 6 мес. изменялась $50 \pm 18\%$, а у пациентов с генотипом *1/*1 — $29 \pm 16\%$ ($p = 0,005$).

Генотипирование rs4149056 гена *SLCO1B1*, позволяет выявить пациентов из группы высокого риска развития стаин-индуцированной миопатии, которым необходим повышенный контроль терапии и минимальные терапевтические дозировки статинов. Носительство минорного аллеля «С», rs4149056 T>C гена *SLCO1B1* является независимым фактором риска СИМ (Odds_ratio = 4, С.И. = [1,3—12,8], $\chi^2 = 6,1$, $p = 0,013$).

Установлена ассоциация полиморфного варианта *CYP2C19**2 с изменением агрегации тромбоцитов с АДФ после приёма клопидогреля. Среди пациентов, участвовавших в исследовании, была выделена группа с парадоксальным ответом на препарат, заключающимся в повышении агрегации тромбоцитов с АДФ на фоне приёма клопидогреля. На данный момент проводится многоцентровое исследование, цель которого — проверка гипотезы о том, что полиморфный вариант *CYP2C19**2 ассоциирован с тромбозом коронарного стента, а также с парадоксальным лабораторным ответом на приём клопидогреля.

При поддержке Федеральной Целевой Программы (Госконтракт 14.607.21.0066, универсальный идентификатор проекта RFMEFI60714X0025).

Спектр мутаций в гене *RS1* при X-сцепленном ювенильном ретиношизисе у российских больных

Логина А.Н., Хлебникова О.В., Поляков А.В.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», 115478, Москва, ул. Москворечье, д.1
e-mail: anlogina@mail.ru

X-сцепленный ювенильный ретиношизис — распространённая макулярная дегенерация сетчатки глаза среди мужчин с ранним началом развития, характеризующаяся потерей остроты зрения от лёгкой до тяжёлой степени тяжести и расщеплением слоев сетчатки. Мутации в гене *RS1* приводят к развитию X-сцепленного ювенильного ретиношизиса. Ген расположен на хромосоме X в локусе Xp22.13 и состоит из 6 экзонов.

По данным литературы, описано более 190 мутаций, приводящих к развитию заболевания. Миссенс мутации составляют около 80%, делеции — 13%, дупликации — 3% и вставки — 1,5%. Основная доля мутаций обнаруживается в конце гена (экзоны 4—6), преимущественно это миссенс-мутации. В экзонах 1—3 в основном встречаются мутации сайта сплайсинга и делеции.

Изученная выборка составила 13 неродственных мужчин с диагнозом X-сцепленный ювенильный ретиношизис. Мутации были найдены у 12 чел. Половина обнаруженных мутаций приходится на экзон 6 гена *RS1*. Было выявлено 9 миссенс-мутаций, одна делеция первых трёх экзонов, одна мутация сплайсинга и одна вставка. Кроме того, нами были обнаружены 4 ранее не описанные замены. В группе здорового контроля, которая составила 150 чел., данные варианты обнаружены не были.

Редкий случай мозаичной формы тетрасомии по короткому плечу хромосомы 9

Ложкин Д.А., Кадирова И.С., Донников М.Ю., Гильнич Н.А., Сичинава Е.П., Новикова М.В., Иваненко В.В., Южакова А.Г., Зубайдуллина С.Р., Колбасин Л.Н.

БУ ХМАО-Югры «Окружной кардиологический диспансер «Центр диагностики и сердечно-сосудистой хирургии», Медико-генетическая консультация, г. Сургут, ул. Ленина, 69/1
mgk@okd.ru

Пробанд — мальчик 10 лет 6 мес., был направлен на консультацию к врачу-генетику в связи с трудностью в обучении. Ребёнок от I беременности, протекавшей без особенностей. Роды в 36—37 недель. При рождении вес 2960 г, длина 49 см, состояние удовлетворительное. Развитие до и после года соответствует возрастным нормам. Фазовая речь с 2,5 лет. Семейный анамнез не отягощён. На момент осмотра масса тела 30 кг, рост 141 см, асимметрия грудной клетки, сколиоз, плосковальгусная гипермобильность верхних и нижних суставов. По результатам консультации врача-офтальмолога: ангиопатия сетчатки обоих глаз. Заключение врача-невролога: Последствия перинатального поражения ЦНС гипердинамический синдром, синдром дефицита внимания. Синдром вегетативной дисфункции. По результатам обследования: ход позвоночных артерий в костном канале шейных позвонков умеренно извит — справа на уровне С3-С4, С4-С5, С5-С6, значительно извит — слева на уровне С4-С5, С5-С6. Ультразвуковые признаки выраженной венозной дисциркуляции в вертебро-базиллярном бассейне. При цитогенетическом исследовании лимфоцитов периферической крови выявлен кариотип: mos47,XY,+mar[15]/46,XY[19]. Мозаичный вариант состоит из двух клонов: один 47,XY с дополнительной маркёрной хромосомой в 15 клетках, другой с кариотипом 46,XY в 19 клетках.

По результатам молекулярно-цитогенетического исследования (FISH) выяснилось, что маркёрная хромосома содержит материал хромосомы 9 и является изохромосомой по короткому плечу хромосомы 9: 47,XY,+mar/46,XY. ish 47,XY,+i(9)(q10)(wcp9+). Заключительный диагноз: хромосомная патология, мозаицизм из двух клонов, один с дополнительной маркёрной хромосомой в 15 клетках из 34, маркёрная хромосома содержит материал хромосомы 9 и является изохромосомой по короткому плечу хромосомы 9.

Основываясь на данных литературы (A.Schinzel), при данной хромосомной патологии в позднем подростковом и взрослом периоде серьёзной проблемой может стать кифосколиоз. Пробанд нуждается в регулярном наблюдении у специалистов.

Воспаление различного генеза и гены семейства интерлейкина-1

Лошкова Е.В.¹, Кондратьева Е.И.^{1,2}, Тарасенко Н.В.³, Глиф А.И.⁴, Янкина Г.Н.¹, Степаненко Н.П.⁵, Гаприндашвили Е.Г.¹, Рыжакова Н.А.¹, Терентьева А.А.¹, Ваганова Т.В.⁶, Асекретова Т.В.⁴, Трёмбач А.В.⁴

¹ ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России, Томск

² ФГБНУ МГНЦ, Москва

³ ФГБНУ «НИИМГ», Томск

⁴ ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России, Томск

⁵ Филиал ТНИИКиФ ФГБУ СибФНКЦ ФМБА России

⁶ ОГАУЗ «Детская больница №1», Томск

Цель исследования: проведение ассоциативного поиска между полиморфизмами генов семейства интерлейкина — 1 и различными моделями воспаления у детей.

Обследовано 866 детей. Микробная модель воспаления: муковисцидоз (82 ребёнка) и пиелонефрит (99 детей). Аутоиммунная модель воспаления: сахарный диабет 1 типа (154 ребёнка), целиакия (99 детей), аутоиммунный тиреоидит (119 детей). Метаболическая модель воспаления: ожирение (112 детей) и остеопороз (131 ребёнок). Лимфопролиферативная модель — 70 детей с онкогематологическими заболеваниями. Группа сравнения — 243 чел.

Показаны ассоциации аллеля A2 и генотипа A2A2 полиморфного маркера VNTR гена *IL1RN* с хроническим пиелонефритом ((аллель A2 OR = 1,84 (95% CI: 1,10—3,09; $\chi^2 = 5,540$; p = 0,019), генотип A2A2 OR = 3,05 (95% CI: 1,20—7,98; $\chi^2 = 5,760$; p = 0,016)), муковисцидозом ((аллель A2 OR = 1,73 (95% CI: 1,05—2,86; $\chi^2 = 4,680$; p = 0,003), генотип A2A2 OR = 2,13 (95% CI: 1,14—4,01; $\chi^2 = 5,730$; p = 0,016)), нейтропенической лихорадкой на фоне лейкоза ((аллель A2 OR = 2,26 (95% CI: 1,31—3,92; $\chi^2 = 9,040$; p = 0,003), генотип A2A2 OR = 3,01 (95% CI: 1,48—6,16; $\chi^2 = 9,910$; p = 0,002)). Для общей модели микробного воспаления (пиелонефрит, муковисцидоз и нейтропеническая лихорадка) установлена ассоциация с генотипом A2A2 полиморфизма *IL1RN**VNTR (OR = 1,85 (95% CI: 1,18—2,89; $\chi^2 = 4,390$; p = 0,036).

Распределение полиморфизма генов глутатион-S-трансфераз M1, T1, и их связь с нарушением репродукции у коренного населения Горной Шории

Лузина Ф.А., Дорошилова А.В., Захаренков В.В., Гуляева О.Н., Казицкая А.С.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний» г.Новокузнецк, ул. Кутузова 23
luzina45@mail.ru

Проблема изучения молекулярно-генетических механизмов предрасположенности или устойчивости к различным заболеваниям с учётом этнопопуляционной специфики является актуальной в современной медицине.

Работа посвящена исследованию ассоциаций «нулевых» генотипов *GSTM1* 0/0, *GSTT1* 0/0 и их сочетаний с невынашиванием беременности у женщин коренной (шорской) национальности. Материал для настоящего исследования собран в ходе комплексных генетико-эпидемиологических экспедиций ГБОУ ДПО «НГИУВ» МЗ РФ (г.Новокузнецк), ФГБНУ «НИИ КПССЗ» (г.Кемерово) и ФГБНУ «НИИ КПГПЗ» (г.Новокузнецк) в 2010—2013 гг. в районах Горной Шории Кемеровской области. Образцы ДНК выделены из венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции. Делеционный полиморфизм генов *GSTM1* и *GSTT1* исследовали методом ПЦР в реальном времени с использованием наборов реагентов ООО «СибДНК». Численность выборки женщин с невынашиванием беременности (срок гестации до 22 недель) составила 80 чел., без отягощённого акушерского анамнеза — 94 чел. В качестве контроля рассматривался также популяционный уровень частоты встречаемости *GSTM1* 0/0 и *GSTT1* 0/0 среди коренного и пришлого населения Горной Шории.

Выявлена специфика в распределении частот полиморфных вариантов генов исследуемых локусов у монголоидного и европеоидного населения. Частоты «нулевых» генотипов у шорцев значительно ниже, чем у пришлого европеоидного населения: *GSTM1* 0/0 у шорцев — 0,220, русских — 0,446, $\chi^2 = 5,47$, $p = 0,19$; *GSTT1* 0/0 — 0,269 и 0,413, $\chi^2 = 1,78$, $p = 0,18$. Анализ ассоциаций генетических маркёров с невынашиванием беременности показал одностороннюю тенденцию увеличения частоты «нулевого» генотипа *GSTM1* 0/0 и его сочетания с *GSTT1* 0/0 у женщин с НБ, как коренной национальности — шорок, так и женщин европейского происхождения, что может свидетельствовать о возможном участии этих систем в нарушении репродукции.

Сложные транслокации, приводящие к нетипичной морфологии производной хромосомы 22, при хроническом миелолейкозе

Лукьянова А.С.¹, Зотова Е.В.¹, Ванько И.С.¹,
Дмитренко И.В.², Федоренко В.Г.²,
Мишарина Ж.А.³, Пенковская-Грея Б.⁴

¹ ГУ «Институт патологии крови и трансфузионной медицины НАМН Украины», Львов

² ГУ «Национальный научный центр радиационной медицины НАМН Украины», Киев

³ Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, Киев

⁴ Онкологический центр — Институт им. М. Склодовской-Кюри, Варшава
anna.myshka@gmail.com

Транслокация t(9;22)(q34;q11), или филадельфийская (Ph) хромосома, является специфическим цитогенетическим маркёром для хронического миелолейкоза (ХМЛ). Согласно данным литературы, приблизительно в 10—15% случаев она может формироваться путём сложных транслокаций с вовлечением дополнительных хромосом, что приводит к нетипичной морфологии деривата хромосомы 9 без изменения морфологии деривата хромосомы 22, а также разделению второго смешанного сигнала (ген *ABL/BCR*) в FISH-исследовании. В работе представлены 3 случая сложных транслокаций, вследствие которых морфология der(22)t(9;22;V) отличалась от традиционной Ph-хромосомы.

Атипичная Ph-хромосома была обнаружена у 3 больных ХМЛ. Во всех случаях исследование проводилось в момент диагностики. Использовались методы G-banding и FISH с флуоресцентным зондом BCR/ABLDCDF. Во всех случаях вместо

типичной для t(9;22)(q34;q11) укороченной производной хромосомы 22 был обнаружен маркёр, предположительно состоящий из хромосомы 22 с дополнительным материалом на длинном плече. FISH-исследование показало наличие типичного набора сигналов (два смешанных *BCR/ABL* и *ABL/BCR*, один красный *ABL* и один зелёный *BCR*). Сопоставление результатов кариотипирования и FISH показало наличие больших сложных транслокаций t(9;22;5)(q34;q11;q31), t(9;22;6)(q34;q11;p22) и t(9;22;9)(q34;q11;q22). Возможно, механизм транслокаций был двухэтапным: сначала формировалась типичная t(9;22)(q34;q11), после чего в первых двух случаях происходил обмен материалом между производной хромосомы 22 и партнёрской хромосомой (в описанных случаях хромосомы 5 и 6). В третьем случае, вероятно, на втором этапе произошел последовательный взаимный обмен материалом между дериватом хромосомы 9, второй копией хромосомы 9 и дериватом хромосомы 22. Описанные случаи могут служить иллюстрацией повышенной генетической нестабильности Ph-позитивных клеток при ХМЛ, а также гетерогенности механизмов образования сложных транслокаций. Однако для оценки их прогностического значения требуется большее количество случаев и длительное наблюдение за больными.

Клинический случай идиопатической гемолакрии

Лукьянова Т.В., Лисиченко О.В., Василькова Н.Ю.,
Матяш Н.А., Мельник Н.А., Подосинова О.В.

ГБУЗ Новосибирской области «Центр планирования семьи и репродукции»

Медико-генетическая консультация
г.Новосибирск, ул. Станиславского, 24
luktat@mail.ru

Гемолакрия (выделение крови вместе со слезами, «кровяные слезы») — чрезвычайно редкая патология. Частота её распространённости не превышает 1:1000000. В доступной медицинской литературе недостаточно информации, описаны единичные случаи заболевания.

В медико-генетическую консультацию г.Новосибирска обратилась семья, у дочери, 14 лет, периодически отмечаются кровавые выделения из глаз, впервые появившиеся в возрасте 12 лет, провоцируемые стрессами, а также и без явной причины. Другие провоцирующие факторы, перенесённые в анамнезе конъюнктивиты, травмы, неблагоприятные условия окружающей среды отрицаются. В течение дня кровавые выделения могут возникнуть несколько раз, патология носит двусторонний характер, предшествуют ощущения жжения в глазах, светобоязнь. Приступ гемолакрии сопровождается головной болью, тошнотой, рвотой. Длительность кровотечения различна, возможна до 1 часа, различна частота повторения, выделения прекращаются самопроизвольно. В 13,5 лет появились носовые и ушные кровотечения. Ребёнок активно занимается спортом, во время занятий спортом подобные явления не возникали.

При осмотре у девочки отмечены геморрагические корочки на коже нижнего века и в области ушной раковины. Окружающие глаз ткани не изменены.

С момента манифестации кровотечения из глаз ребёнок обследован гематологом, отоларингологом, офтальмологом, неоднократно проконсультирована нейрохирургом. Проведено общеклиническое обследование, выполнены МРТ головного мозга, ультразвуковая доплерография, ультразвуковое исследование брюшной полости. В динамике исключены неопластические процессы.

В настоящее время результаты проведённого обследования не позволили обнаружить конкретную причину гемолакрии, поэтому состояние расценено как идиопатическое. Учитывая возможность появления гемолакрии в качестве предшественника соматического заболевания, ребёнок будет находиться под динамическим наблюдением.

Вторичный миелодиспластический синдром у пациентки с множественной миеломой (случай из практики)

Лучинин А.С., Овсепян В.А.

ФГБУН «Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА»

610027, г. Киров, ул. Красноармейская, 72

glivec@mail.ru

Миелодиспластический синдром (МДС), связанный с предшествующим лечением (химио- и лучевой терапией), является редким осложнением. В то же время появление вторичного клонального заболевания костного мозга ведет к быстрому сокращению продолжительности жизни больных вследствие резистентности к терапии индукции. Риск формирования вторичного клонального заболевания при ММ может быть связан с длительной химиотерапией алкилирующими агентами.

Пациентка М., 49 лет, наблюдалась с диагнозом множественной миеломы, ПА стадия, IgGκ-вариант. Диагноз множественной миеломы установили в 1997 г. Больная получила 10 курсов химиотерапии по схеме мелфалан с преднизолоном (средняя курсовая доза мелфалана составила 300 мг). Была достигнута частичная ремиссия. В 2004 г. в связи с прогрессированием заболевания проведено 5 курсов химиотерапии по схеме M2 (VBMCP). В 2006 г. по тем же показаниям провели 3 курса VMP. Однако лечение было отменено из-за высокой токсичности. В результате терапии получена частичная ремиссия. С марта по июль 2008 г. больная получила 4 курса химиотерапии по схеме M2 с консолидирующей целью. Суммарная доза мелфалана за весь период лечения составила 4674 мг.

При обследовании пациентки в феврале 2008 г. в общих анализах крови с интервалом 1 месяц обнаружены единичные недифференцированные бластные клетки в количестве от 1 до 3%, наблюдали прогрессирование анемии до тяжелой степени (гемоглобин 66 г/л). В миелограмме отмечено увеличение количества миелобластов до 3,7%, появились признаки дисплазии эритроидного ростка (мегалобластозидность) и миелоидного ростка (макроформы миелоидных элементов). При анализе кариотипа клеток костного мозга диагностировали множественные клональные нарушения. Кариотип: 46, XX, -7, -12, -16, -20, -20, +t, +mar1, +mar2, +mar3, +mar4. Диагностирован вторичный миелодиспластический синдром (вариант РАИБ-1 по классификации ВОЗ), связанный с предшествующей терапией алкилирующими агентами. Проводилось лечение малыми дозами цитозара и заместительная гемотрансфузионная терапия. Больная умерла через 9 месяцев терапии от инфекционных осложнений.

Мутационный скрининг основных кандидатных генов при боковом амиотрофическом склерозе

Лысоговская Е.В.*, Абрамычева Н.Ю.,

Мороз А.А., Иллариошкин С.Н.

ФГБНУ «Научный центр неврологии»

125367, Москва, Волоколамское ш., 80

*kutakovaev@gmail.com

Боковой амиотрофический склероз (БАС) является преимущественно спорадическим нейродегенеративным заболеванием, но а 5—10% пациентов имеют положительный семейный анамнез. В семейных случаях развитие БАС связано с мутациями в одном из 22 описанных к настоящему времени генетических локусов.

В группе из 199 пациентов со спорадической и 9 пациентов с семейной формами БАС было проведено комплексное клинико-генетическое исследование: секвенирование кодирующей области гена *SOD1*, 6-го экзона гена *TARDBP* (наиболее мутационно-активного экзона гена *ANG*, а также исследование частоты тандемных тринуклеотидных (CAG)_n повторов

в гене *ATXN2*. Анализ нуклеотидных последовательностей проводили на капиллярном генетическом анализаторе ABI Prism 3130 с помощью программного обеспечения Data Collection Software версии v3.0, Sequencing Analysis Software версии v5.2 и SeqScape Software версии v2.5.

Выявлено 11 гетерозиготных мутаций в гене *SOD1* у 14 неродственных пациентов с БАС, в том числе 8 мутаций в кодирующей области гена и 3 мутации в некодирующих областях гена. Кодирующих мутаций в гене *TARDBP* выявлено не было, но у 79 (38%) пациентов была обнаружена делеция с.715-126delG (rs3835416), в том числе у 72 пациентов в гетерозиготном и у 7 — в гомозиготном состоянии (в контроле — 26,6%, ОШ 1,7, ДИ 1,11—2,57; $p = 0,013$). Выявлены 2 гетерозиготные мутации в гене *ANG* у 3 неродственных пациентов со спорадическим БАС. Таким образом, частота мутаций при спорадическом БАС составила 1,5%. При анализе гена *ATXN2* «предэкспансия» тандемных CAG-повторов встречалась с частотой 5% среди пациентов со спорадическим БАС и в 1,7% случаев в группе контроля ($n = 353$). При анализе ОШ шанс развития заболевания у носителей «предэкспансии» CAG увеличивался до 3,36 (ДИ 1,1—10,4, $\chi^2 = 4,98$, $p = 0,026$).

Выявленные частоты мутаций в изученных генах отражают особенность российской выборки пациентов с БАС, которую необходимо учитывать при проведении ДНК-тестирования. В случае семейного БАС большинство наследуемых форм заболевания связано с повреждением гена *SOD1*, частота мутаций в котором составила 50% в обследованных случаях БАС. Вариативность симптоматики семейных и спорадических форм БАС не позволяет сформулировать четкие рекомендации по отбору кандидатных генов для поиска мутаций в зависимости от фенотипа, при этом обоснована необходимость первоочередного скрининга *SOD1* и процедуры медико-генетического консультирования у кровных родственников больных БАС при наличии семейного анамнеза.

Клиническая характеристика пациентов с болезнью Гентингтона, проживающих в Республике Башкортостан

Магжанов Р.В., Сайфуллина Е.В.

ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет»,

450000, г.Уфа, ул. Ленина, 3

mcjanoff@yandex.ru

В Башкортостане проживают 4,07 млн чел. Коренное население Республики — башкиры, численность которых составляет, по данным переписи 2010 г., 1,17 млн чел. (28,79%). Наиболее многочисленными представителями других национальностей являются русские (35,19%) и татары (24,78%).

По данным национального автоматизированного генетического регистра «Болезнь Гентингтона» на 1 января 2015 года на диспансерном наблюдении в медико-генетической консультации находятся 152 больных БГ, 24 obligатных носителей, 157 вероятных носителей из 147 семей, также в базе данных содержится информация о 78 умерших больных. Распространенность БГ в Республике Башкортостан составила 3,7 на 100 000 населения.

У большинства пациентов наблюдалась классическая гиперкинетическая форма заболевания. В двух семьях: татарской и русской этнической принадлежности отмечены повторные случаи ювенильной формы болезни. В нескольких семьях, чаще башкирской этнической принадлежности, наряду с гиперкинетическими формами заболевания отмечались случаи акинетико-ригидной формы болезни. При этом возраст манифестации заболевания у пациентов варьировал от 29 до 32 лет, а количество CAG-повторов в гене *IT-15* составило 43—47. Отчётливого различия между больными разных этнических

групп по возрасту начала болезни не выявлено ($39,8 \pm 10,2$; $39,5 \pm 9,2$; $35,9 \pm 11,6$, $p > 0,02$).

Таким образом, клинический полиморфизм БГ имеет преимущественно внутрисемейный и межэтнический характер.

Полиморфизм гена хитотриозидазы человека (CHIT1) в рамках изучения явления долгожительства в Абхазии

Макаров С.В.¹, Карапетян М.К.¹,
Квеквесири К.Б.², Спицын В.А.¹

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва, ул. Москворечье, 1; e-mail: ecolab@med-gen.ru

² Абхазский государственный университет; Государственное учреждение Институт экологии АН Абхазии, г. Сухум

Изучение биохимических механизмов старения, факторов и заболеваний, влияющих на продолжительность жизни, приобретают все большую актуальность в связи с широким применением молекулярно-генетических методов и развитием персональной геномики. Большое число исследований последнего времени направлены на выявление генетических полиморфизмов, благоприятствующих долголетию. Особого внимания заслуживают факторы, имеющие отношение к развитию сердечно-сосудистых, онкологических и инфекционных заболеваний. Одним из них является ген хитотриозидазы человека (CHIT1), кодирующий одноимённый фермент с хитинолитической активностью и предполагаемой функцией защиты от хитин-содержащих патогенов. При обследовании средиземноморского населения Malaguamera L. с соавторами [2010] была замечена повышенная частота встречаемости гетерозигот CHIT1 у долгожителей по сравнению с контрольной группой.

С целью изучения этого явления выборку из 79 пожилых людей возрастом от 75 до 101 года (средний — 81 год), проживающих в Абхазии, мы генотипировали по 24-п.н.-полиморфизму в 10 экзоне гена CHIT1. Контроль представляли 97 абхазов из той же популяции возраста от 15 до 33 лет (средний — 18,5 лет). Частоты генотипов в выборке пожилых абхазов распределились следующим образом: TT = 0,54, TH = 0,41, HH = 0,05, в контроле: TT = 0,71; TH = 0,25; HH = 0,04. Сравнение частот гетерозигот в выборках показало, что вариант TH достоверно чаще встречается в выборке пожилых людей ($\chi^2 = 4,7$ при d.f. = 1).

Результаты подтверждают феномен повышения гетерозиготности по исследованному полиморфизму в старших возрастных группах. Можно предположить, что средний уровень активности фермента, присущий гетерозиготам, является оптимальным и благоприятствует сохранению жизни в большей степени, чем его крайние значения.

Длина теломер лейкоцитов крови как маркёр старения и фактор риска развития возраст-зависимых заболеваний в Сибири

Максимов В.Н., Воронаева Е.Н., Вовак М.,
Малютина С.К., Воевода М.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук
630089, г.Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1
medik11@mail.ru

Целью нашего исследования является изучение градиента и детерминант возрастных изменений здоровья при старении и исследование их связей с рядом биомаркёров «биологического» возраста в современной российской популяции предпенсионного и пенсионного возраста. Настоящее исследование является про-

ектом международной научной группы, включающей исследователей НИИТПМ СО РАМН (Новосибирск, Россия), University College London (London UK), Laboratory of Molecular Genetics at Center for Experimental Medicine (Prague, Czech Republic).

Российская популяция становится старше и более подвержена развитию хронических неинфекционных заболеваний (ХНИЗ), половина из которых приходится на сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ). Прогрессирование возрастных изменений и их детерминанты имеют популяционную специфичность. Поскольку основные исследования по проблеме выполнены на североамериканских и западноевропейских популяциях, в которых эпидемиологическая ситуация в отношении ХНИЗ и ССЗ, существенно отличается от России, анализ возрастного градиента здоровья на материале российской популяции крайне актуален.

Исследование выполняется на стратифицированной по полу и возрасту популяционной выборке мужчин и женщин (800 чел.) в возрасте 45—69 лет (2003—2005 гг.), входящих в когорту 10-летнего проспективного наблюдения. Молекулярно-генетические исследования проводятся на базе межинститутского сектора молекулярной эпидемиологии и эволюции человека (НИИТПМ СО РАМН и НИИ цитологии и генетики СО РАН). Исследование длины теломер выполняется на материале ДНК, выделенной из клеток крови, с помощью количественной ПЦР (qPCR) в реальном времени на основе методики Sawthorn и соавторов (2002) с модификациями. Получены первые данные о связи длины теломер, с рядом возраст-зависимых качественных и количественных фенотипов, которые планируется сопоставить с результатами оценки состояния здоровья и длины теломер у этих же лиц, спустя 10 лет (2014—2015 гг.).

Финансовая поддержка: Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда (проект №14-45-00030).

Клинико-генеалогическое и молекулярно-генетическое изучение редких наследственных болезней в Якутии

Максимова Н.Р.

Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, г.Якутск, ул. Кулаковского, 46
nogan@yandex.ru

Цель исследования: клинико-генеалогический анализ редких наследственных заболеваний в Республике Саха (Якутия), изучение их молекулярно-генетической основы и раскрытие механизмов их накопления в якутской популяции.

Проведённое впервые у якутов клинико-генеалогическое изучение Якутского синдрома низкорослости (3-М синдрома, OMIM 273750) показало, что для якутских больных характерны те же признаки, что и для описанных ранее в литературе клинических случаев 3-М синдрома в других популяциях мира, за исключением описанного нами дистресс-синдрома в периоде новорождённости. Патогномичные рентгенологические признаки для данного синдрома не характерны для якутских больных. Выявлена единственная для всех больных нонсенс мутация 4582insT в гене CUL7. Заболевание внесено под номером 273750 в международный электронный каталог В. Маккьюсика (OMIM) как альтернативное название синдром 3-М.

Впервые клинически описан новый наследственный синдром низкорослости у якутов. Основными клиническими симптомами нового синдрома являются: постнатальная гипоплазия, пропорционально низкий рост (SDS-4), лицевые дизморфии, микромелия стоп и кистей, вялая и дряблая кожа, колбочковая дисфункция с атрофией зрительных нервов и пельгеровская аномалия нейтрофилов. У всех больных выявлена миссенс-мутация G5741→A в гене NAG. Новому синдрому дано название «синдром низкорослости с атрофией зрительных нервов и пельгеровской аномалией лейкоцитов» (SOPH syndrome) и присвоен номер 614800 в международном электронном каталоге В. Маккьюсика (OMIM).

Выявлен «гаплотип основателя» в локусах генов *CUL7*, *NAG* по данным STR-локусов.

Представляется перспективным дальнейшее изучение молекулярной природы наследственных болезней у якутов, позволяющее открыть новые гены и новые молекулярно-генетические механизмы развития специфических болезней.

Преимственность преподавания медицинской генетики в медицинском вузе

**Максимова Ю.В., Лисиченко О.В.,
Хорошевская Я.А., Максимов В.Н.**

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
630090, г.Новосибирск, Красный просп., 52
164706@mail.ru

Кафедра медицинской генетики в ГБОУ ВПО НГМУ Минздрава России была создана в 2003 г. В первые годы работы кафедры медицинская генетика преподавалась только студентам 4-го курса лечебного и педиатрического факультетов в размере 36 академических часов. С 2006 г. курс медицинской генетики был введен в программу подготовки ординаторов всех специальностей, а с 2007 г. в программы курсов повышения квалификации и профессиональной переподготовки врачей. В зависимости от специализации врачей были подготовлены программы, в которые вошли общие основы генетики, лабораторные методы, наследственные заболевания в данной специальности и тактика врача в зависимости от выявленной патологии или при подозрении на неё. В этом же году НГМУ получил лицензию на подготовку специалистов в ординатуре, а через несколько лет и в интернатуре по специальности «генетика». Благодаря обучению врачей общим принципам генетики повысился уровень их информированности, и как следствие, направления от специалистов к медицинскому генетику на консультацию стали более обоснованными. Это подтверждается повышением процента выявления генетической патологии в Областном медико-генетическом отделе ГБУЗ НСО ГНОКДЦ за последние 7 лет. Положительная динамика в оказании помощи больным с наследственной патологией на территории Новосибирской области была высоко оценена медицинским сообществом в Новосибирске. Руководство НГМУ приняло решение по укрупнению кафедры путём присоединения к ней теоретического блока биологии. С 2011 г. она переименована в кафедру медицинской генетики и биологии. Преподавание на кафедре ведется с акцентом на понимание генетики для работы врача. На сегодняшний момент преподавание медицинской генетики осуществляется на всех этапах подготовки врача: довузовская подготовка школьников, все факультеты вуза по дисциплине «биология» на первом курсе, а также на первом курсе педиатрического факультета дисциплина «основы медицинской генетики», как факультатив в размере 72 часов. На 4-м курсе — цикл «медицинская генетика», после окончания ВУЗа подготовка в интернатуре, ординатуре и как завершающий этап на циклах повышения квалификации врача. Такой комплексный подход позволяет повысить эффективность подготовки врачей по медицинской генетике.

Генетические аспекты патогенеза миомы матки

Мальшева О.В., Осинковская Н.С.

ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта»
Санкт-Петербург, 199034, Менделеевская линия д.3
otal99@mail.ru

Лейомиома матки (ЛМ), встречающаяся почти у 60% женщин старше 45 лет, является доброкачественной опухолью моноклонального происхождения, возникающей из гладкомышечных

клеток миометрия. Установлено, что в развитии ЛМ ведущая роль принадлежит соматическим генным и хромосомным мутациям. Наиболее типичным нарушением в клетках миоматозных узлов являются мутации 2 экзона гена *MED12*. По нашим данным, такие мутации встречаются в 53% миоматозных узлов; мутации хотя бы в одном узле можно выявить у 72% пациенток. Данный ген кодирует белок, являющийся одним из компонентов медиаторного комплекса, опосредующего взаимодействие РНК-полимеразы II с транскрипционными факторами. Характерные для ЛМ мутации приводят к нарушению взаимодействия медиатора с регуляторами клеточного цикла циклин С/CDK-8. Характерные для миомы мутации взаимодействия медиатора с регуляторами клеточного цикла циклин С/CDK-8.

Вторым по частоте молекулярным драйвером развития ЛМ является увеличение экспрессии гена *HMG2*, кодирующего хромосомный белок, регулирующий экспрессию ряда генов, вовлечённых в процессы адипогенеза и дифференцировки тканей мезенхимного происхождения. Чаще всего aberrантная экспрессия *HMG2*, расположенного в локусе 12q14, обусловлена транслокациями t(12;14)(q14-15;q23-24), которые встречаются в 20% миоматозных узлов.

Другие соматические генетические aberrации (например, мутации гена *FH* и разнообразные перестройки локуса *COL4A5-COL4A6*) также могут быть молекулярными драйверами роста миоматозных узлов, но примерно в 90% опухолей присутствуют либо мутации *MED12*, либо перестройки локуса 12q14, содержащего ген *HMG2*. Не до конца понятна роль других часто встречающихся при ЛМ хромосомных перестроек, таких, как del(7)(q22q32) и del(6)(p21), а также хромотрипсиса, ограниченного 1—3 хромосомами, наличие которого типично для клеток ЛМ. Выяснение точных молекулярных механизмов развития ЛМ имеет существенное значение для разработки новых подходов к профилактике, ранней диагностике и эффективной терапии этого частого заболевания.

Серийные измерения уровня экспрессии гена *WT1* для оценки эффективности трансплантации гемопоэтических стволовых клеток при острых миелоидных лейкозах

**Мамаев Н.Н., Гудожникова Н.В., Горбунова А.В.,
Гиндина Т.Л., Бондаренко С.Н., Бархатов И.М.,
Афанасьев Б.В.**

НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачёвой
ПСПбГМУ им. акад. И.П.Павлова
nikmataev524@gmail.com

Уровень экспрессии гена *WT1* является надёжным молекулярным маркером в диагностике посттрансплантационных рецидивов (ПТР) лейкозов, а по нашим данным, хорошо коррелирует с уровнем экспрессии в клетках генов *AML-ETO* и *EVII*.

Измерение уровня экспрессии гена *WT1* проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени. Обследовано 34 больных острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ) и 12 миелодиспластическими синдромами (МДС).

Исходный максимальный уровень экспрессии гена *WT1* у больных ОМЛ варьировал от 175 до 56 884 копий/100 копий гена *ABL*. Он не зависел от цитологического и цитогенетического типа острого миелоидного лейкоза, но был связан с числом бластных клеток в костном мозге и крови. Серийные измерения этого гена позволило разделить когорту больных на 2 равные группы. В первой группе после ТГСК наблюдалась закономерная нормализация показателя, в то время как во второй группе этого не происходило. Средняя общая выживаемость (ОВ) по группам составляла 462 и 559 дней, а трёхлетняя выживаемость равнялась 78 и 52% соответственно ($p = 0,08$).

Молекулярный мониторинг посттрансплантационного периода у больных ОМЛ и МДС имеет несомненное клиническое значение. Границы этого подхода могут быть расширены за счёт обследования больных с *WT1*+ острыми лимфобластными лейкозами и неходжкинскими лимфомами, в том числе в ходе химиотерапии.

Исследование генетических и эпигенетических факторов, влияющих на тяжесть спинальной мышечной атрофии

Маретина М.А.¹, Железнякова Г.Ю.^{2,3}, Ланько К.М.⁴, Егорова А.А.¹, Богачева М.С.¹, Тищенко Л.И.², Баранов В.С.^{1,2}, Киселев А.В.¹

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург

² Санкт-Петербургский Государственный Университет

³ Университет Уппсалы, Швеция

⁴ Санкт-Петербургский государственный технологический институт

Спинальная мышечная атрофия (СМА) — аутосомно-рецессивное нейродегенеративное заболевание, характеризующееся потерей функций мотонейронов передних рогов спинного мозга в результате мутаций гена *SMN1*. Центромерно ориентированная копия гена *SMN1* — ген *SMN2* — способен производить до 10% полноразмерной мРНК и является основным модификатором течения заболевания. Также существуют дополнительные генетические, а также эпигенетические факторы, влияющие на тяжесть развития СМА. В зависимости от тяжести и времени проявления симптомов различают 4 типа СМА. Было показано, что количество копий гена *SMN2* коррелирует с типом СМА.

Целью работы является изучение наследственных факторов, влияющих на тяжесть спинальной мышечной атрофии (СМА), таких, как количество копий гена *SMN2* и уровень метилирования геномной ДНК.

Определение числа копий гена *SMN2* проведено у 165 пациентов со СМА I (48), II (82) и III (35) типа с помощью метода ПЦР в реальном времени. Получены достоверные различия в частотах встречаемости 2, 3 и 4 копий гена *SMN2* у пациентов с разными типами СМА, что позволяет использовать определение числа копий гена *SMN2* в качестве дополнительного критерия при определении типа СМА, который следует учитывать при раннем прогнозе развития заболевания.

Метилирование ДНК является наиболее стабильной эпигенетической модификацией, изменяющей паттерн экспрессии генов. Нами был изучен уровень метилирования около полумиллиона CpG нуклеотидов, что позволило выявить 10 CpG сайтов достоверно различающихся по метилированию между больными СМА и здоровыми индивидами. Два сайта показывали положительное изменение метилирования, а 8 сайтов — негативное. Ассоциированные с этими CpG нуклеотидами гены *CHML* и *ARHGAP22* влияют на активность Rab и Rho GTPаз, регулирующих созревание везикул, динамику сборки актиновых филаментов, аксоногенез, т.е. процессы, напрямую влияющие на тяжесть течения СМА. Для дальнейшего исследования были выбраны гены, продукты которых наиболее вероятно связаны с патогенезом СМА — гены *DYNC1H1*, *SLC23A2* и *CDK2AP1*, участвующие в аксональном транспорте, нейритогенезе и ремоделировании хроматина. Определение метилирования CpG сайтов исследуемых генов проведено у 78 пациентов (40 с тяжёлой (I) и 38 с лёгкой (III—IV) формами СМА). Не выявлено значимых различий в уровне метилирования 5'-UTR областей генов *SLC23A2* и *CDK2AP1* и экзона 41 гена *DYNC1H1* между двумя группами пациентов. Вместе с тем, уровень метилирования экзона 37 гена *DYNC1H1* у пациентов с лёгкой формой СМА оказался значимо выше, чем у пациентов с тяжёлой формой. Эти данные свидетельствуют об

участии продуктов гена *DYNC1H1* в развитии заболеваний, связанных с дегенерацией мотонейронов.

Метилирование ДНК при атеросклеротическом поражении артерий у человека

Марков А.В.^{1,3,}, Назаренко М.С.^{1,3}, Фролов А.В.², Барбараш О.Л.², Пузырев В.П.^{1,3}*

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской генетики», г.Томск

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г.Кемерово

³ Национальный исследовательский Томский государственный университет, г.Томск

* e-mail: anton.markov@medgenetics.ru

Атерогенез сопровождается изменением активности многих генов, продукты которых вовлечены в различные молекулярные и клеточные патологические события, а также связанные с ними эпигенетические сдвиги. С развитием новых технологий высокопроизводительного анализа появилась возможность крупномасштабного скрининга генома и одновременной идентификации множества локусов, дифференциально метилированных в тканях *in vivo*. Целью данной работы являлась оценка профилей метилирования ДНК в тканях сосудистой стенки, а также лейкоцитах периферической крови у больных атеросклерозом. Для исследования была использована ДНК 85 пациентов, выделенная из образцов тканей сосудистой стенки (атеросклеротических бляшек (САБ) и макроскопически неизменённых прилежащих тканей сонных артерий, атеросклеротических бляшек правых коронарных артерий (КАБ), образцов редко поражаемой атеросклерозом внутренней грудной артерии (ВГА) и большой подкожной вены), а также лейкоцитов периферической крови (ЛПК). Анализ метилирования 27378 CpG-сайтов 14425 генов был проведён на микрочипах фирмы «Illumina» с верификацией результатов для отдельных локусов методом бисульфитного пироквенирования. В результате было показано, что ткани сосудистой стенки и лейкоциты периферической крови больных атеросклерозом дифференцируются по профилю метилирования ДНК. Локусы со сниженным уровнем метилирования в КАБ и САБ относительно тканей ВГА, содержат гены регуляции иммунного ответа, воспаления, апоптоза, клеточного ответа на различные стимулы (в том числе липиды), дифференцировки клеток и морфогенеза. Верификационное исследование установило, что промотор гена *HOXD4* (локус *MIR10B*), а также экзон 1а гена *MEST* гипометилированы, а экзон 11 гена *AATK* — гиперметилирован в КАБ и САБ, а также ЛПК по сравнению с тканями редко поражаемых атеросклерозом артерий и вен, изученных в данной работе.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации (соглашение №14.120.14.5096-НШ).

Степень тяжести тугоухости при мутациях в гене *GJB2* (коннексина 26)

Маркова Т.Г.^{1,3}, Цыганкова Е.Р.^{1,3}, Блинец Е.А.², Поляков А.В.², Таварткиладзе Г.А.^{1,3}

¹ ФГБУН «Российский научно-практический центр аудиологии и слухопротезирования ФМБА России»,

Москва, 117513, Ленинский пр., 123

tarkova@audiology.ru

² ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва

³ БГОО ДПО Российская медицинская академия последипломного образования МЗ РФ

Тугоухость, обусловленная мутациями в гене *GJB2* или коннексина 26, относится к наиболее частым врождённым наследственным заболеваниям. Степень тугоухости в 75% случаев тяжёлая, требующая раннего вмешательства. Частота носительства в Северо-Западном регионе достигает 1 на 16, в Централь-

ном 1 на 25, в ряде регионов отмечаются характерные мутации. Благодаря универсальному аудиологическому скринингу врожденная тугоухость различной степени тяжести выявляется в первые месяцы жизни и составляет 1 на 500 новорожденных. Согласно полученным нами данным, частота тугоухости связанной с коннексином 26 составляет 1 на 1000 новорожденных в указанных регионах. Большинство мутаций в гене *GJB2* приводят к несиндромальной тугоухости с рецессивным типом наследования, редко встречаются доминантные мутации, которые приводят к несиндромальной и синдромальной тугоухости.

Результатом рецессивных мутаций является врожденная двусторонняя сенсоневральная тугоухость различной степени тяжести. В 75% случаев отмечается тяжёлая тугоухость, в 15% средней степени тяжести, в 10% случаев дети рождаются с лёгкой степенью тугоухости. Нарушение слуха отличается стабильным течением, т.е. в большинстве случаев пороги слуха не изменяются с возрастом. Возраст обнаружения — с рождения и первые годы жизни. Дети с лёгкой степенью тугоухости также выявляются при аудиологическом скрининге. Лица с нарушением слуха лёгкой и средней степени, как правило, учатся в массовой школе. При медико-генетическом консультировании (МГК) лиц с двусторонней сенсоневральной тугоухостью независимо от степени тяжести необходимо назначать анализ гена *GJB2*. Нами описаны случаи некорректного прогноза потомства у взрослых лиц с лёгкой тугоухостью, которые в дальнейшем при генетическом анализе оказывались гомозиготами по мутации 35delG в гене *GJB2*, а их супруги носителями мутации. При МГК лиц с тугоухостью необходимо учитывать распространённость и частоту носительства в регионе. МГК семьи при рождении ребёнка с тугоухостью влияет на решение вопросов о необходимости и выборе методов реабилитации.

Возможности использования стандартного метода полимеразной цепной реакции в режиме реального времени и автоматизированного анализатора GeneXpert Dx System в определении глубокого молекулярного ответа у больных ХМЛ

Мартынкевич И.С.¹, Шуваев В.А.¹, Фоминых М.С.¹, Виноградова О.Ю.^{2,3}, Петрова Е.В.¹, Полушкина Л.Б.¹, Цыбакова Н.Ю.¹, Новицкая Н.В.⁴, Абдулкадыров К.М.¹

¹ ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии ФМБА», Санкт-Петербург martynkevich.ira@mail.ru

² ФГБУ ФНКЦДГОИ им. Д. Рогачева МЗ РФ, Москва

³ ГБОУ ВПО РНИИМ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, Москва

⁴ ГБУЗ г.Москвы «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина ДЗМ», Москва

Результаты клинических исследований (STIM, EURO-SKI, ENESTPath, ENESTfreedom) доказывают, что главным условием успешной отмены терапии ингибиторами тирозинкиназ (ИТК) больных ХМЛ является наличие у пациентов глубокого стойкого (2 и более года) молекулярного ответа (МО) с чувствительностью детекции 4—5 log.

Цель исследования — выявить возможности количественных ПЦР методов — стандартной полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) и автоматизированной закрытой системы GeneXpert Dx System, в определении глубокого молекулярного ответа у пациентов с ХМЛ.

В исследование включены 49 больных ХМЛ, получающих терапию ИТК, достигших и сохраняющих глубокий молекулярный ответ (МО⁴⁻⁵) по результатам стандартного ПЦР-РВ. Уровень экспрессии *BCR-ABL* оценивали при помощи стандартной количественной ПЦР-РВ с наборами ИнтерЛабСервис (РФ) с пересчётом результатов согласно международной шкале IS и автоматизированной системы GeneXpert Dx System (Cepheid, США).

Сравнительный анализ результатов, полученных при исследовании уровня экспрессии *BCR-ABL* гена обоими методами, показал высокую чувствительность автоматизированной закрытой системы GeneXpert Dx System по сравнению с ПЦР-РВ (конкордантность составила 77,6%). Применение GeneXpert позволило выявить минимальный лейкозный клон у 11 из 49 (22,4%) больных ХМЛ со стабильным отрицательным уровнем относительной экспрессии *BCR-ABL* гена 4-5 log, определяемым с использованием стандартного ПЦР-РВ при повторных 4—8 анализах.

Использование автоматизированной системы анализа GeneXpert для определения уровня относительной экспрессии *BCR-ABL* гена у больных ХМЛ со стабильным глубоким МО⁴⁻⁵ позволяет обнаруживать минимальное количество копий *BCR-ABL* гена с высокой чувствительностью — 5,5—6 log.

Вариабельность локуса окулофарингеальной миодистрофии в популяциях Якутии

Марусин А.В.¹, Куртанов Х.А.², Максимова Н.Р.², Сваровская М.Г.¹, Степанов В.А.¹

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики, 634050, г.Томск, ул. Набережная р. Ушайки 10

E-mail: andrey.marusin@medgenetics.ru

² Якутский научный центр комплексных медицинских проблем, 677013, г.Якутск, Сергеляхское ш., д. 4

Окулофарингеальная миодистрофия (ОФМД, OMIM 164300) — наследственное нервно-мышечное заболевание с аутосомно-доминантным типом наследования, манифестирующее на 5—6-м десятилетии жизни. Исследования, касающиеся гаплотипического анализа ОФМД с использованием в качестве маркёров STR или SNP в мире единичны, а в России подобные работы не проводились. Целью работы являлся клинико-генеалогический анализ, изучение молекулярно-генетической основы и раскрытие механизмов накопления окулофарингеальной миодистрофии в республике Саха (Якутия) (РС (Я)). Материалом для исследования послужили образцы ДНК 60 больных с клиническим диагнозом ОФМД из 47 неродственных семей. Популяционную выборку составили четыре этнические группы Якутии (якуты, эвены, эвенки, юкагиры). В качестве маркёров для изучения локуса ОФМД были выбраны 10 SNP. Анализ распространённости болезни показал: ОФМД в Якутии (12,5 на 100 тыс. нас.) превышает мировые значения в десятки раз и позволяет отнести редкое в мире заболевание к частым наследственным заболеваниям у якутов. Молекулярно-генетической причиной ОФМД у якутов является экспансия (GCN)₁₄-повторов в гене *PABPN1*. Мутантный аллель (GCN)₁₄ несут три гаплотипа по 10 исследованным SNPs. Показан популяционно-специфичный характер структуры LD *PABPN1* для всех изученных популяций. Максимальное количество блоков LD (3) отмечено у якутов, тогда как у эвенов, эвенков и юкагиров выявлен только один блок сцепления. При анализе гаплотипа, построенного на основе связанного с мутацией второго блока LD, у всех исследованных носителей мутации выявлен единственный гаплотип (ATCG). Таким образом, распространение ОФМД в РС (Я) обусловлено накоплением единственной мутации (GCN)₁₄ — (GCC)₁₀(GCA)₃(GCC) в результате эффекта основателя. Возраст мутации (GCN)₁₄, рассчитанный на основании анализа STR-гаплотипов больных, ОФМД составил 189,2 ± 62,7 поколения, или 3783 ± 1254 года. Выявленные биологические маркёры ОФМД, возможно, позволят формировать группы риска для своевременной реализации в них мероприятий по профилактике развития данного заболевания в Якутии.

Частота аллеля 1691A гена *F5* в группах пациентов с различными видами патологии

Масленников А.Б.

ГБУЗ НСО «Государственный Новосибирский областной клинический диагностический центр»
630047, Новосибирск, ул. Залесского, б. корп. 7
tab2000@mail.ru

Целью исследования являлась оценка целесообразности и значимости использования возможностей молекулярной медицины в повышении качества и эффективности консультативного приёма врачей различных специальностей.

В рамках диагностической работы областной научно-практической лаборатории ДНК-диагностики проведена оценка выявляемости мутации с.G1691A(p.R506Q) гена *F5* в группах пациентов с различными заболеваниями и патологическими состояниями. Ранее, при обследовании контрольных групп, сформированных по эпидемиологическим критериям из жителей Новосибирской области мужского и женского пола репродуктивного возраста, было показано, что частота аллеля 1691A гена *F5* в них составила 0,0083 и 0,0116 соответственно.

По результатам обследования, направленных в лабораторию ДНК-диагностики ГНОКДЦ пациентов, было показано, что частота аллеля 1691A гена *F5* составила:

- в 308 супружеских парах, в которых у женщин в анамнезе имелось две и более замерших беременности или же два и более самопроизвольных прерывания беременности в сроке до 24 недель, — 0,0576 (при двух выявленных гомозиготных генотипах);
- среди пациентов с тромбозом вен нижних конечностей (31 чел.) — 0,129 (при одном выявленном гомозиготном генотипе);
- среди пациентов с варикозной болезнью (102 чел.) — 0,0686;
- у женщин с тромбозом на фоне приёма гормональных препаратов (11 чел.) — 0,1818;
- в группе пациентов (27 чел.) с задержкой интеллектуального развития — 0,037;
- в группе пациентов (19 чел.) которые в возрасте до 30 лет перенесли ишемический или геморрагический инсульт — 0,1578 (при одном выявленном гомозиготном генотипе);
- в группе пациентов (134 чел.), которые в возрасте до 45 лет перенесли трансмуральный инфаркт миокарда, — 0,0411.

Полученные результаты свидетельствуют о высокой частоте среди обследованных групп пациентов мутации с.G1691A(p.R506Q) гена *F5*. Это подтверждает целесообразность и обоснованность такого обследования, поскольку обеспечивает возможность коррекции и выбора тактики лечения и ведения пациентов; позволяет осуществлять семейную профилактику развития патологических состояний.

Реверсия иммунофенотипа при острых лейкозах у детей

Матвеева Е.А.¹, Казакова А.Н.¹, Пономарева Н.И.², Дубровина М.Э.¹, Байдун Л.В.², Осипова Е.Ю.¹, Мякова Н.В.¹, Ольшанская Ю.В.¹

¹ ФГБУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева, 117997, Москва, ул. Саморы Машела, д. 1

² ФГБУ Российская детская клиническая больница Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Реверсия иммунофенотипа (lineage switch) наблюдается в 6—9% случаев рецидивов острых лейкозов у детей. Большинство случаев переключения — из острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) в острый миелобластный лейкоз (ОМЛ) в 50% случаев происходит в лейкозах с перестройкой гена *MLL*. Мы представляем три случая реверсии иммунофенотипа у пациентов с острым лейкозом.

Пациент 1, мальчик, 8 мес. В-линейный ОЛЛ с коэкспрессией NG2, CD33. При FISH исследовании обнаружена t(6;11)(q27;q23). Терапия по протоколу ALL-BFM-2000. Через 9 мес. — рецидив с трансформацией в острый мегакариоцитарный лейкоз. t(6;11)(q27;q23) сохранялась. Начата терапия по протоколу AML-BFM-2004 с последующей ТГСК. На +28 констатирована прогрессия заболевания.

Пациент 2, девочка, 2 года 3 мес. В-линейный ОЛЛ с коэкспрессией CD15, CD33и NG2. При СЦИ и FISH выявлена t(9;11)(p21;q23). Терапия по протоколу ОЛЛ-МБ-2008. На 36 день индукции достигнута ремиссия. Через 17 мес. — костно-мозговой рецидив с реверсией в острый миелонобластный лейкоз. При СЦИ и FISH-t(9;11)(p21;q23) в составе гиперплоидного клона. Терапия по протоколу FLAI. Смерть через 2 мес. от прогрессии заболевания.

Пациент 3, мальчик, 1 год 5 мес. В1-ОЛЛ с коэкспрессией CD15,экстрамедулярное поражение орбиты. При СЦИ и FISH обнаружена t(4;11)(q21;q23). Терапия по протоколу ОЛЛ-МБ-2008, на 36 день индукции достигнута ремиссия. Через 4 мес. — рецидив с трансформацией в острый монобластный лейкоз. Выявлена t(4;11)(q21;q23) в составе клона с удвоенным числом хромосом. Терапия по протоколу для рефрактерных бифенотипических лейкозов. При контрольном обследовании в костном мозге — ремиссия, однако по данным МРТ головного мозга сохраняется инфильтрация орбиты. В настоящее время продолжена терапия по программе FLAM.

Таким образом, все пациенты продемонстрировали переключение из ОЛЛ в ОМЛ. Все пациенты имели перестройку гена *MLL* — в составе транслокаций t(9;11), t(4;11) и t(6;11) и во всех случаях имела место рефрактерность к терапии рецидива заболевания.

Изучение потенциально регуляторных SNPs в промоторных районах гена *APC* человека

Матвеева М.Ю., Кашина Е.В., Брызгалов Л.О., Антонцева Е.В., Бондарь Н.П., Решетников В.В., Меркулова Т.И.

Институт цитологии и генетики СО РАН,
630090, г.Новосибирск, пр. Лаврентьева 10
matveeva_m@bionet.nsc.ru

С помощью ранее разработанного подхода [Bryzgalov et al. 2013] осуществлен поиск потенциально регуляторных однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs) гена *APC* человека, участвующего в развитии колоректального рака. Выявлено скопление мест связывания транскрипционных факторов в районах промоторов 1A и 1B гена *APC* и отобрано 18 потенциально регуляторных SNPs. Методом задержки в геле олигонуклеотидов, соответствующих разным аллелям, белками ядерных экстрактов клеточных линий человека (HCT-116, HepG2, HeLaS3, K562) показано влияние большинства нуклеотидных замен на формирование ДНК-белковых комплексов. С использованием ресурса JASPAR определены сайты связывания транскрипционных факторов, которые могут разрушаться или создаваться в результате исследуемых замен. Для дальнейшего изучения таких SNPs созданы плазмидные конструкции на основе вектора pGL4.10[luc2], содержащие вставки районов промоторов 1A и 1B и этих же районов с нуклеотидными заменами, соответствующими изучаемым SNPs. После трансфекций клеточной линии K562, для ряда замен показано достоверное различие относительной интенсивности репортёрной люминесценции по сравнению с исходными вариантами. Таким образом, получены доказательства функциональной значимости потенциально регуляторных SNPs в промоторах гена *APC* человека, которые могут быть новыми онкомаркерами при семейных формах рака толстого кишечника.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №15-04-05780 А

Новые методы геномной инженерии в биомедицинских исследованиях

Медведев С.П.^{1,2,3,4}, Закиян С.М.^{1,2,3,4}

¹ ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

e-mail: medvedev@bionet.nsc.ru

² ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

³ ФГБУ Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения им. академика Е.Н. Мешалкина Минздрава России, Новосибирск, Россия

⁴ Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

Изучение молекулярных механизмов наследственных заболеваний и поиск способов их терапии является одним из актуальных и прогрессивно развивающихся направлений современной биологии и медицины. Для детального изучения патогенеза наследственных болезней, необходимо наличие точно и эффективно работающих инструментов изучения функций генов и их взаимодействия. В последние годы появились и активно используются учёными такие инструменты редактирования геномов, как TALENs (Transcription Activator-Like Effector Nucleases) и CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)/Cas9. В настоящий момент данные системы используются в нескольких направлениях: нокаут генов, стимуляция гомологичной рекомбинации, делеции или инсерции протяжённых фрагментов ДНК. С помощью данных подходов были созданы изогенные клеточные модели наследственных болезней человека, в том числе на основе культивируемых плюрипотентных клеток (эмбриональных стволовых клеток и индуцированных плюрипотентных стволовых клеток). Данные модели активно применяются для изучения патогенеза болезней на клеточном и молекулярном уровнях, поиска новых молекулярных мишеней для лекарственной и генной терапии, а также для скринингов и токсикологических исследований новых лекарственных препаратов. Потенциально, TALENs- и CRISPR/Cas9-опосредованная гомологичная рекомбинация может быть применена для создания пациент-специфичных линий с исправленным генотипом, которые могут являться аутологичным материалом для заместительной клеточной терапии. Кроме того, на основе CRISPR/Cas9 недавно были созданы системы для нокаута и активации экспрессии генов в масштабе всего генома. Эти системы обладают огромным потенциалом применения в системном исследовании функции генов и их взаимодействия при развитии наследственных болезней, а также при метастазировании и устойчивости опухолей к химиотерапии.

Две новые мутации в гене *IFT80*, ответственном за развитие синдрома Жена

Милованова Н.В.¹, Захарова Е.Ю.¹, Малахова В.А.¹, Егорова М.¹, Шухова²

¹ ФГБНУ МГНЦ

² РДКБ г.Нальчик

Асфиксическая дистрофия грудной клетки (синдром Жена) — редкое аутосомно-рецессивное наследственное заболевание. Основным клиническим проявлением данного заболевания является врождённая деформация грудной клетки, чисто диафрагмальное дыхание и раннее развитие дыхательной недостаточности. Диагноз ставится клинически при рождении ребёнка. Прогноз неблагоприятный.

Мы исследовали образец ДНК двухмесячного ребёнка с клинически поставленным диагнозом *асфиксическая дистрофия грудной клетки*. Согласно данным литературы, ген *IFT80* кодирует белок, входящий в комплекс В внутрижгутикового транспорта клеток, мутации в котором приводят к развитию асфиксической дистрофии грудной клетки 2 (MIM 611263).

Методом прямого автоматического секвенирования было проведено исследование всей кодирующей последовательности гена *IFT80*, включая области экзон-интронных соединений.

В 18-м экзоне была выявлена делеция четырёх нуклеотидов с.2223+4_2223+7del в гетерозиготном состоянии. Данная замена ранее не описана в литературе. С помощью программы предсказания сайтов сплайсинга NetGene2 было предсказано, что данная делеция приводит к исчезновению донорного сайта сплайсинга.

В 14-м экзоне была выявлена ранее не описанная замена с.1603C>T (p.535Pro>Ser) в гетерозиготном состоянии. Согласно программе PolyPhen2, данная замена является мутацией.

Из всего вышесказанного можно сделать вывод, что выявленные делеция и замена с высокой степенью вероятности являются мутациями.

Молекулярно-генетическая диагностика и частота врождённой мышечной дистрофии типа 1А (мерозин-негативной) в России

Миловидова Т.Б., Дадали Е.Л., Руденская Г.Е., Поляков А.В.

ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН, ул. Москворечье, 1, Москва, Россия
tatiana_milovidova@mail.ru

Врождённая мышечная дистрофия 1А типа (ВМД1А) — наследственное заболевание, причиной которого являются мутации гена *LAMA2*, кодирующего $\alpha 2$ -цепь мерозина, проявляющиеся патологическими симптомами мышечной дегенерации, фиброзом и характерными изменениями белого вещества головного мозга. Частота ВМД1А в настоящее время не установлена.

Ген *LAMA2* расположен на длинном плече хромосомы 6, состоит из 65 экзонов и покрывает 633,43 kb, что делает молекулярно-генетическую диагностику ВМД1А трудоёмкой, длительной и дорогостоящей. В связи с чем возникает необходимость разработки дешёвых и быстрых способов молекулярно-генетической диагностики ВМД1А в отягощённых семьях.

В исследование вошли 26 семей с диагнозом ВМД1А. Поиск мутаций осуществлялся методом прямого автоматического секвенирования по Сенгеру на приборе ABI Prism 3100 (Applied Biosystems) с использованием протокола фирмы производителя. Анализ результатов секвенирования осуществлялся с помощью программ Chromas и BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>). Разработка системы детекции частых мутаций в гене *LAMA2* осуществлялась методом мультиплексной ПЦР с последующей рестрикцией. Для определения частоты ВМД1А использовалась ДНК 1000 здоровых неродственных человек, проживающих на территории РФ.

В результате исследования 26 пробандов с ВМД1А, мутации в гомо- или гетерозиготном состоянии были выявлены в 21 случае, что составляет 81%. Определен спектр мутаций в гене *LAMA2* у российских больных. Примечательно, что были выявлены частые мутации в гене *LAMA2*: с.2049_2050delAG (ex 14), составляющая 9,5%, с.7536delC (ex 54), составляющая 19%, и с.7732C>T (ex 55), составляющая 7%. Для мутации с.7536delC показан эффект основателя.

На основании этих и литературных данных были выбраны 6 мутаций, описание которых встречается многократно, была разработана система детекции частых мутаций гена *LAMA2*, информативность которой составила не менее 50%.

С помощью данной системы был проведён поиск частых мутаций в гене *LAMA2* у 1000 здоровых неродственных человек. В результате исследования было выявлено 2 мутации в гетерозиготном состоянии. Впервые проведена оценка популяционной частоты шести мутаций в гене *LAMA2* среди жителей РФ и расчётной частоты заболевания ВМД1А, которая составила 1 на 72 000 новорождённых.

Дифференциальная молекулярная диагностика наследственной несиндромальной сенсоневральной тугоухости и синдрома Пендреда

Миронович О.Л.¹, Близиц Е.А.¹,
Маркова Т.Г.², Поляков А.В.¹

¹ ФБГНУ «Медико-генетический научный центр РАМН», Москва
mironovich_333@mail.ru

² ФГБУН «Российский научно-практический центр аудиологии и слухопротезирования ФМБА», Москва

Половина случаев врожденной детской тугоухости тяжелой степени обусловлена мутациями в гене коннексина 26, которые вызывают изолированное двустороннее сенсоневральное нарушение слуха. Синдром Пендреда — рецессивное заболевание, характеризующееся сочетанием нарушения слуха с формированием эутиреоидного зоба. Нарушение слуха при синдроме обычно сопровождается аномалиями развития структур костного лабиринта внутреннего уха (широким водопроводом преддверия — EVA и/или дисплазией Мондини). У новорожденных пациентов с синдромом Пендреда щитовидная железа не увеличена, зоб формируется в раннем подростковом возрасте у 40% пациентов, у остальных — позже. Возраст, в котором наблюдается увеличение щитовидной железы, варьирует даже у пациентов из одной семьи, что затрудняет дифференциальную диагностику у детей синдрома Пендреда, изолированной тугоухости с EVA и несиндромальной сенсоневральной тугоухости. Распространенность синдрома Пендреда в мире оценивается как 7,5–10 случаев на 100 000 населения. Данное заболевание считается самым частым синдромальным вариантом тугоухости. За развитие как синдрома Пендреда, так и EVA или дисплазии улитки Мондини ответственны мутации в гене пендрина — *SLC26A4*.

Распространенность и этиология синдрома Пендреда и аллельных заболеваний не изучены. В ходе данной работы было проведено исследование ДНК 11 пробандов с синдромом Пендреда и/или EVA. Образцы геномной ДНК пациентов выборки проанализированы на наличие мутаций в генах коннексина 26 (*GJB2*) и пендрина (*SLC26A4*). В результате анализа у двух пациентов с синдромом Пендреда и одного пациента с EVA обнаружены биаллельные мутации в гене *SLC26A4*. У одного пациента обнаружена мутация с.35delG в гене *GJB2* в гомозиготном состоянии, и диагноз *синдром Пендреда* не подтвердился. У остальных пациентов выборки (60%) мутации не обнаружены. В связи с полученными результатами начато исследование на наличие мутаций в гене *SLC26A4* у пациентов с дисплазией внутреннего уха Мондини.

Генетический контроль обмена холестерина в интраабдоминальной жировой ткани

Мирошникова В.В., Пантелеева А.А.,
Усенко Т.С., Пчелина С.Н.

Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова
НИЦ «Курчатовский институт», Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова

Абдоминальное ожирение сопровождается накоплением холестерина в жировой ткани, нарушением обмена липопротеинов высокой плотности и существенным повышением риска развития сердечно-сосудистой патологии. В основе патологического разрастания интраабдоминального жира лежит гипертриглицеридемия, т.е. увеличение объема, адипоцитов, которое может быть ассоциировано с изменениями на уровне экспрессии генов, контролирующих обмен липидов, в частности холестерина. Транспортеры ABCA1 и ABCG1 — трансмембранные белки-переносчики холестерина — играют ведущую роль в транспорте холестерина и элиминации его из клеток. В регуляции их актив-

ности на геномном и молекулярном уровне могут принимать участие различные лиганд-зависимые ядерные факторы, такие, как PPAR γ , LXR α , LXR β и ROR α . Исследование профиля экспрессии генов *ABCA1*, *ABCG1*, *PPAR γ* , *LXR α* , *LXR β* и *ROR α* является перспективным направлением для выявления новых мишеней для фармакотерапии ожирения и сопутствующих ему патологий. В нашем исследовании выявлены особенности экспрессии генов *ABCA1* и *ABCG1* в интраабдоминальной жировой ткани в зависимости от индекса массы тела. Также показано, что ядерный рецептор PPAR γ и орфановый рецептор ROR α играют значимую роль в регуляции уровня белков *ABCA1* и *ABCG1* в интраабдоминальной жировой ткани.

Исследование поддержано грантом РФФИ 14-04-31690

Прогностическая и диагностическая роль экспрессии раково-тестикулярных генов при онкогематологических заболеваниях

Мисюрин В.А.¹, Мисюрин А.В.^{1,3}, Мисюрина А.Е.²,
Кесаева Л.А.¹, Финашутин Ю.П.¹, Тихонова В.В.¹,
Лыжко Н.А.¹, Сальник А.А.¹, Мисюрина Е.Н.³,
Марьин Д.С.², Марголин О.В.², Нестерова Е.С.²,
Чернова Н.Г.², Шаркунов Н.Н.², Кравченко С.К.²,
Барышников А.Ю.¹

¹ ФГБНУ «РОИЦ им. Н.Н. Блохина», Москва, Россия
vsevolod.misyurin@gmail.com

² ФГБУ Гематологический научный центр МЗ РФ, Москва, Россия

³ КДЦ «ГеноТехнология», Москва, Россия

Экспрессия раково-тестикулярных генов (РТГ) возможна при онкогематологических заболеваниях.

Цель работы: оценить влияние экспрессии РТГ *SP17*, *GAGE1*, *HAGE*, *NY-ESO-1*, *MAGEA1*, *PASDI*, *SCPI*, *SEMG1*, *SELLP1*, *SPANXA1*, *SSX1* и *PRAME* на клинические особенности гемобластозов.

Детекция мРНК РТГ производилась методом RQ-PCR. Была собрана периферическая кровь (ПК) 39 больных с диагнозом JAK2-положительные хМПЗ; ПК и костный мозг (КМ) 95 больных ХМЛ, КМ 92 первичных больных острым миелоцитарным лейкозом (ОПЛ); ПК и лимфатические узлы (ЛУ) 27 больных лимфомой Ходжкина (ЛХ); ПК и КМ 17 больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой (ДВКЛ), ПК, КМ и ЛУ 22 больных фолликулярной лимфомой (ФЛ).

В крови больных хМПЗ и первичных больных ХМЛ стадии ХФ РТГ экспрессировались на сопоставимом уровне ($p = 0,001$). В крови больных ХМЛ частота экспрессии РТГ была в стадии БК выше, чем в стадии ХФ ($p = 0,032$) и ФА ($p = 0,048$). Экспрессия *PRAME* в костном мозге больных ХМЛ стадии БК по уровню выше, чем в ХФ ($p = 0,06$) и ФА ($p = 0,026$). Экспрессия *PRAME* наблюдалась у 100% больных ОПЛ. Уровень экспрессии *PRAME* относительно *PML/RAR α* был либо сопоставим, либо очень низок. За время наблюдения у 19% больных ОПЛ развился ранний рецидив, и только у тех, кто имел низкий уровень экспрессии *PRAME* ($p = 0,008$). У 6 больных ЛХ до начала терапии в ПК наблюдалась экспрессия 6 РТГ, но после достижения ПР экспрессии данных генов не наблюдалась. Высокий уровень экспрессии *HAGE* и *PRAME* у больных ДВКЛ и ФЛ был связан с меньшим процентом достижения ПР, чем низкий уровень (0% vs. 100%, $p = 0,049$ и 18% vs. 45% $p = 0,0041$).

Обнаружено молекулярное сходство ХФ ХМЛ и хМПЗ. Появление мРНК РТГ в ПК и КМ больных ХМЛ происходит при эволюции ХМЛ из ХФ в ФА и БК. При ОПЛ уровень экспрессии гена *PRAME* указывает на высокий риск развития рецидива. Гиперэкспрессия *HAGE* при ДВКЛ и *PRAME* при ФЛ указывает на резистентность опухоли к терапии.

Коэкспрессия MYC/BCL2 повышает риск развития рецидива/прогрессирования заболевания у больных ДВКЛ, получающих интенсивную химиотерапию по протоколу M-NHL-BFM-90

Мисюрин А.Е.¹, Ковригина А.М.¹, Барях Е.А.², Мисюрин В.А.³, Мисюрин А.В.³, Кравченко С.К.¹, Куликов С.М.¹, Гемдзян Э.Г.¹, Обухова Т.Н.¹

¹ ФГБУ ГНЦ МЗ РФ, Москва, *anna.lukina1@gmail.com*

² Городская клиническая больница №52, Москва

³ НИИ ЭДнТО ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» ФАНО, Москва

Продолжает обсуждаться потенциальная роль белков MYC и BCL2 в формировании резистентности диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДВКЛ).

Цель исследования — анализ связи экспрессии белков MYC и BCL2 у больных ДВКЛ с эффективностью лечения по протоколу интенсивной химиотерапии m-NHL-BFM-90.

62 больным, получавшим лечение в ГНЦ по протоколу m-NHL-BFM-90, выполнено ИГХ с антителами к BCL2, MYC (cutoff MYC и BCL2 $\geq 40\%$ и 50% соответственно). 22 больным проведено СЦИ. FISH-исследование MYC и BCL2 выполнено 53 больным. 17 больным выполнена RQ-PCR для определения количества мРНК c-MYC и BCL2. Обработка данных проводилась в программе SAS 9.3.

Коэкспрессия MYC/BCL2 чаще встречалась при non-GCB типе ДВКЛ (29% vs. 17%, $P = 0,18$). Перестройка c-MYC выявлена у 1 больного при уровне экспрессии белка более 40%. У 11 больных (21%) выявлены один или более дополнительных сигналов от локуса c-MYC. Не обнаружено корреляции между наличием дополнительных сигналов от гена c-MYC и уровнем экспрессии белка MYC $\geq 40\%$ ($p < 0,05$). Перестройка гена BCL2 не выявлена ни в одном случае. Амплификация BCL2 наблюдалась у 17 (40%) больных. Выявлена корреляция между амплификацией гена BCL2 и экспрессией белка BCL2 $\geq 50\%$ ($p = 0,0053$). Найдена связь между количеством мРНК c-MYC и уровнем экспрессии белка MYC (коэффициент корреляции 0,86; $p < 0,0001$). Не найдено корреляции между количеством мРНК и уровнем экспрессии белка BCL2 (коэффициент корреляции составил 0,14; $p = 0,57$). Коэкспрессия MYC/BCL2 достоверно повышала вероятность развития рецидивов/прогрессирования ДВКЛ в течение 4 лет (65% vs. 15% в группе с и без коэкспрессии MYC/BCL2 соответственно; $p = 0,0029$). Многофакторный анализ показал, что коэкспрессия MYC/BCL2 является независимым фактором риска развития рецидива/прогрессирования у больных ДВКЛ, леченных по протоколу m-NHL-BFM-90 ($P = 0,003$).

Определение уровня экспрессии белков MYC и BCL2 методом ИГХ обосновано для включения в диагностический алгоритм обследования больных ДВКЛ в целях стратификации на группы риска развития рецидива/прогрессирования заболевания.

Врожденный гипотиреоз в Москве: основные итоги 10-летнего неонатального скрининга (2005—2014 гг.)

Митькина В.Б., Денисенкова Е.В.

Научно-практический Центр психического здоровья детей и подростков, Центр неонатального скрининга, Москва, 119334, 5-й Донской проезд, д,21a mitkinsl@rambler.ru

Представлены результаты неонатального скрининга на врожденный гипотиреоз (ВГ) в Москве за 10 лет (2005—2014 гг.).

Всего было обследовано 1 263 805 новорожденных, при этом группа риска составила 6240 детей (0,4%). В течение 10-летнего периода величина порогового уровня для наборов ДЕЛФИЯ Нео-ТТГ (кат.№А032-310) изменилась с 20 мкЕд/мл до 11 мкЕд/мл в 2009 г. (99,5 перцентиль), что привело к увеличению группы риска (с 0,1 до 0,9%) и количеству детей, направленных к эндокринологу.

Диагноз врожденного гипотиреоза подтвердился у 453 детей из группы риска, таким образом частота заболевания в среднем за 10 лет составила по г. Москве — 1:2789. Частота ВГ варьирует по годам, но имеет место небольшое увеличение в последние несколько лет, особенно после изменения порогового уровня. Диагноз транзиторного гипотиреоза был поставлен 274 новорожденным. При этом изменение порогового уровня привело к существенному увеличению количества гипотиреоза транзиторной формы как в абсолютных, так и в относительных цифрах.

Количество случаев с концентрацией Нео-ТТГ выше чем 50 мкЕд/мл составило около 50% от всех случаев заболевания. С другой стороны у оставшихся детей с диагнозом врожденного гипотиреоза концентрация Нео-ТТГ была менее 50 мкЕд/мл и распределилась таким образом, что в 25—30% всех случаев заболевания с врожденным гипотиреозом уровень Нео-ТТГ находился в интервале от 11 до 20 мкЕд/мл.

Эти данные указывают на важность правильного выбора порогового значения для Нео-ТТГ, с одной стороны, с другой, — указывают на необходимость такого же внимательного и своевременного проведения ретеста, как и для группы с высоким уровнем Нео-ТТГ.

Основной вывод 10-летнего неонатального скрининга ВГ в Москве — наблюдается рост частоты врожденного гипотиреоза в г.Москве с 1:4099 в 2005 г. до 1:1919 в 2014 г. Одной из возможных причин является иодная недостаточность средней степени наблюдаемая в настоящее время в г.Москве, поскольку около 12% всех тестируемых образцов имеют уровень Нео-ТТГ выше 5 мкЕд/мл. Второй возможной причиной является изменение порогового уровня для Нео-ТТГ, что особенно заметно сказалось на увеличении количества транзиторной формы заболевания.

Врожденный гипотиреоз в Москве: основные итоги 10-летнего неонатального скрининга (2005—2014 гг.)

Таблица

Годы	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
К-во новорожденных	102 484	102 734	109 860	123 800	125 700	135 394	136 912	144 755	140 094	142 072
Группа риска	141 (0,1%)	168 (0,1%)	299 (0,3%)	239 (0,2%)	421 (0,3%)	554 (0,4%)	859 (0,6%)	966 (0,7%)	1056 (0,75%)	1298 (0,9%)
Направлены к эндокринологу	36	36	50	72	100	104	96	77	113	114
Врожденный гипотиреоз	25 (1/4099)	28 (1/3669)	27 (1/4068)	39 (1/3174)	63 (1/1995)	51 (1/2654)	45 (1/3042)	47 (1/3079)	54 (1/2594)	74 (1/1919)
Транзиторный гипотиреоз	5 (1/20497)	6 (1/17122)	8 (1/13732)	22 (1/5627)	26 (1/4834)	34 (1/3982)	44 (1/3111)	30 (1/4825)	59 (1/2374)	40 (1/3552)

Анализ мутаций и экспрессии онкогенов при неинвазивной молекулярно-генетической диагностике основных онкоурологических заболеваний по осадку мочи

Михайленко Д.С.^{1,2}, Жинжило Т.А.¹, Сафронова Н.Ю.¹, Ефремов Г.Д.¹, Залетаев Д.В.^{2,3}, Перепечин Д.В.¹, Григорьева М.В.¹, Сивков А.В.¹

¹ НИИ урологии им. Н.А. Лопаткина — филиал ФГБУ «Федеральный медицинский исследовательский центр им. П.А. Герцена» Минздрава России

Москва, ул. 3-я Парковая, д. 51, к. 4

e-mail: dimserg@mail.ru

² ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»,

Москва, ул. Москворечье, д. 1

³ ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

Рак предстательной железы (РПЖ) и рак мочевого пузыря (РМП) относятся к наиболее частым онкоурологическим заболеваниям. Основной лабораторный метод диагностики РПЖ — определение уровня простатспецифического антигена (ПСА) в крови, однако его концентрация может быть повышена не только при РПЖ, но и при воспалении, гиперплазии или аденоме простаты. Чувствительность цитологического анализа мочи при РМП существенно ограничена на первой стадии заболевания. В связи с этим, актуален поиск новых маркеров для неинвазивной диагностики основных онкоурологических заболеваний. В последние годы описаны молекулярно-генетические изменения, которые характерны для РПЖ и РМП, и могут быть выявлены в осадке мочи. Целью настоящей работы является комплексный анализ экспрессии генов *PCAZ*, *TMPRSS2-ERG* и мутаций *FGFR3* в осадках мочи как потенциальных маркеров для неинвазивной диагностики. Исследовали 29 образцов осадка мочи, полученных от пациентов с РПЖ (10 образцов), аденомой/интраэпителиальной неоплазией — ПИН — (16 образцов) и воспалением (3 образца) простаты. Экспрессию генов *PCAZ* и *TMPRSS2-ERG* определяли методом ПЦР в реальном времени с TaqMan-зондами относительно эндогенного (*GAPDH*) и тканеспецифического (*KLK3*) контролей. Гиперэкспрессия *PCAZ* была характерна для РПЖ: диагностическая точность при пороговом значении ΔCt(*PCAZ*-*KLK3*) равном 0,98 составила 84% для осадков мочи. Экспрессия химерного онкогена *TMPRSS2-ERG* выявлена в 50% РПЖ и 17% случаев ПИН. Методом ПЦР с последующим секвенированием 7 и 10 экзонов *FGFR3* исследовали 16 образцов осадков мочи от больных РМП, группу контроля составили 24 пациента с циститом и мочекаменной болезнью. В 31% случаев РМП выявлены миссенс-мутации: с.746C→G (р. S249C), с.1124A→G (р. Y375C), с.1144G→C (р. G382R) и 2 случая с.1156T→C (р. F386L). Таким образом, анализ экспрессии и мутаций генов *PCAZ*, *TMPRSS2-ERG* и *FGFR3* может быть использован как компонент неинвазивной диагностики РПЖ и РМП по осадку мочи.

Семейный случай сбалансированной реципрокной транслокации аутосом и риск трисомии 21 у потомства

Михайлик Л.И., Тюрина О.В., Пронина Е.Н.

Краевой клинический центр специализированных видов медицинской помощи

690091, г. Владивосток, ул. Уборевича, 30/37

Larisa053@mail.ru

Известно, что носители сбалансированных перестроек аутосом имеют повышенный риск мейотического нерасхождения хромосом и, следовательно, могут иметь повышенный риск трисомии 21 у потомства. В нашей практике встретилась такая семья. В медико-генетическую консультацию г. Владивостока обрати-

лась супружеская пара с пробандом: мальчик, 06.07.2013 г.р. Возраст родителей на момент рождения ребёнка: матери 41 год, отцу 40 лет. Семья полная, брак у обоих супругов первый.

Из анамнеза известно, что ребёнок от четвёртой беременности, протекавшей с угрозой прерывания беременности, двух преждевременных родов в 36 недель, путём кесарево сечения, при рождении масса тела: 2850 г, длина тела: 47 см. Первые две беременности закончились самопроизвольными выкидышами в ранние сроки беременности. Третья беременность закончилась рождением здорового мальчика, путём кесарево сечения.

Фенотип пробанда при рождении: мышечная гипотония, плоское лицо, монголоидный разрез глаз, короткий нос с плоской переносицей, эпикант, брахицефалия с плоским затылком, диспластичные уши, микрототия, короткая широкая шея, брахимезофалангия, клинодактилия мизинцев, четырёхпальцевая ладонная борозда, сандалевидная щель.

Проведено цитогенетическое исследование с использованием G-метода. Кариотип пробанда: 47,XY,t(2;6)(q13;q15),+21. Кариотипирование родителей показало, что выявленная сбалансированная транслокация между 2-й и 6-й хромосомами у ребёнка с трисомной формой синдрома Дауна, отцовского происхождения. Кариотип отца: 46,XY,t(2;6)(q13;q15) Сибс пробанда также унаследовал от отца структурную перестройку. Кариотип сибса пробанда: 46,XY,t(2;6)(q13;q15). Кариотип матери: 46,XX.

Вклад мутаций генов *OTOF*, *RAI1* и *SLC26A4* в этиологию наследственной потери слуха на Алтае и в Туве

Михальская В.Ю.^{1,2}, Бады-Хоо М.С.^{1,3}, Зыцарь М.В.^{1,2}, Бондарь А.А.⁴, Морозов И.В.^{2,4}, Посух О.Л.^{1,2}

¹ ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск; e-mail: mikhalskaya@bionet.nsc.ru

² ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, г. Новосибирск

³ ГБУЗ РТ «Перинатальный центр Республики Тыва», г. Кызыл

⁴ ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск

Наследственная потеря слуха характеризуется уникальной генетической гетерогенностью. В настоящее время картировано около 140 генетических локусов и идентифицировано около 90 генов, ассоциированных с несиндромальными потерей слуха. Наибольший патогенетический вклад (до 50%) вносят мутации гена *GJB2* (Cx26, коннексин 26), скрининг которых имеет приоритетное значение для молекулярной диагностики нарушений слуха. Тем не менее, в большом числе случаев генетические причины глухоты остаются неизвестными. Высокая гетерогенность генетического контроля нарушений слуха (проблема «много генов — один фенотип») затрудняет разработку универсального метода диагностики данной патологии. В последнее время для решения данной проблемы используются новейшие методы геномного анализа. Применение экзомного секвенирования для выяснения генетических причин потери слуха в нескольких алтайских семьях с наследственной глухотой неясной этиологии позволило выявить сегрегацию потери слуха в этих семьях с гомозиготностью по рецессивным мутациям с.5254G>A, с.1111G>C, с.2168A>G в генах *RAI1*, *OTOF*, *SLC26A4* соответственно. Последующий скрининг этих мутаций у больных разного этнического происхождения (алтайцы, тувинцы, русские, казахи), не имеющих мутаций в гене *GJB2* (Cx26) («Cx26-негативные» больные), из Республик Алтай (120 чел.) и Тыва (130 чел.) показал, что эти мутации присутствуют только у представителей коренного населения Алтая — алтайцев. Доля алтайских больных с выявленными мутациями составила: 10,6% (*RAI1*), 4,3% (*OTOF*) и 2,1% (*SLC26A4*). Частота гетерозиготного носительства мутации с.5254G>A (*RAI1*) в популяционной выборке алтайцев (120 чел.) — 3,33%, а с.1111G>C (*OTOF*) и с.2168A>G (*SLC26A4*) не были обнаружены. Полученные данные будут актуальны для разработки молекулярной диа-

гностики наследственной потери слуха у населения исследуемых регионов Сибири.

Работа выполнена при финансовой поддержке базового бюджетного проекта №VI.58.1.1., грантов РФФИ №14-04-90010_Бел, №15-04-04860 и экспедиционных грантов СО РАН.

Два случая синдрома де ля Шапеля в Югре

Михна И.Н., Донников М.Ю., Новикова М.В., Колбасин Л.Н., Зубайдуллина С.Р., Ложкин Д.А., Шульгин Д.А., Овсянникова С.Г.

БУ ХМАО-Югры «Окружной кардиологический диспансер «Центр диагностики и сердечно-сосудистой хирургии», медико-генетическая консультация, г.Сургут, ул. Ленина, 69/1 mgk@okd.ru

Женский кариотип при мужском фенотипе (синдром де ля Шапеля, частота 1: 20 000 — 24 000) встречается в 10 раз реже, чем синдром Клайнфельтера. Представлено описание двух клинических случаев синдрома де ля Шапеля.

Первый случай. Пробанд — мальчик, 6 мес., от II беременности, протекавшей на фоне анемии, носительства антител к цитомегаловирусу, вирусу простого герпеса. При рождении состояние удовлетворительное, вес 3925 г, длина 52 см, окружность головки 38 см, оценка по шкале Апгар 8—9 баллов. Фенотипически: без особенностей. По результатам неонатального скрининга (уровни 17-оксипрогестерона (17-ОП) — 15,3 нмоль/л, тестостерона — 16,1 нмоль/л, адренокортикотропного гормона (АКТГ) — 21,8 пг/мл) ребёнок определен в группу риска по развитию врожденной дисфункции коры надпочечников. В возрасте 5 мес.: уровни 17-ОП — 4,1 нмоль/л, тестостерона — 0,9 нмоль/л, АКТГ — 13,57 пг/мл; на УЗИ тестисы в мошонке, матка и яичники не визуализируются; кариотип 46,XX; молекулярно-цитогенетическое исследование (FISH): 46,XX,ishder(X;Y) (p22.3;p11.3) (SRY+) (зонд LSI SRY SO Probe/CEP X Alpha SG «Vysis» на центромеру X и SRY-регион Y-хромосомы).

Второй случай. Пробанд — мужчина, 29 лет, обратившийся по поводу первичного бесплодия, в анамнезе — оперативная коррекция варикоцеле. Фенотипически: гинекомастия, высокий тембр голоса, гипоплазия яичек, оволосение по женскому типу. Лабораторно: Спермограмма: азооспермия; кариотип 46,XX; FISH: 46,XX,der(X)t(X;Y) (p22.3;p11.3) (DXZ1*2) (DYZ3*0) (SRY+)(wcpY+) — наличие SRY региона Y хромосомы в коротком плече X-хромосомы; молекулярно-генетическая диагностика частых микроделений в локусе AZF: присутствие Y-специфичных маркёров (гены SRY, ZFY) и полное отсутствие локусов AZF-A, B, C, что согласуется с результатами стандартного кариотипирования и FISH.

Фенотипические проявления синдрома де ля Шапеля различны у детей и взрослых, и только цитогенетическая и молекулярно-цитогенетическая диагностика позволяет установить точный диагноз и определить необходимые терапевтические мероприятия.

Молекулярно-цитогенетическая детекция диагностически значимых хромосомных аномалий при множественной миеломе

Мишарина Ж.А.¹, Курченко А.И.¹, Костюкова Н.И.², Ткаченко О.В.², Ситько В.В.³, Бебешко В.Г.³

¹ Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, Киев

JMisharina@yandex.ru

² Киевский центр трансплантации костного мозга, Киев

³ ГУ «Национальный научный центр радиационной медицины НАМН Украины», Киев

Множественная миелома (ММ) является одним из наиболее распространённых онкогематологических заболеваний среди взрослого населения и характеризуется наличием в трансформированных плазматических клетках (ПК) значительного количества хромосомных аберраций, которые не только вносят существенный вклад в патогенез данного заболевания, но и отражают его прогностическую неопределённость.

Целью настоящего исследования было определение спектра диагностически и прогностически значимых хромосомных аномалий в ПК костного мозга больных с ММ методом флуоресцентной *in situ* гибридизации с использованием коммерческих пробпроизводства Abbott Molecular, США. Было обследовано 60 чел. основной группы с диагнозом ММ (31 женщина и 29 мужчин) и 10 здоровых лиц группы контроля. Возраст больных колебался от 39 до 74 лет, в среднем $59,27 \pm 1,03$ года. Исследование проводилось на этапе первичной диагностики заболевания.

При исследовании препаратов интерфазных ядер плазматических клеток костного мозга лиц основной группы в 46,7% случаев зарегистрированы хромосомные нарушения, представленные транслокациями, делециями, гипер- и гипоплоидиями. Транслокации выявлены в 15,0% случаев. Так, у 6 пациентов (10%) определялась транслокация t(4;14) с колебаниями количества аномальных ПК от 10% до 97%, в среднем — $35,05 \pm 4,08\%$. Транслокация t(11;14) отмечалась у 3 больных (5%); процент плазматических клеток с данной аномалией составил 27,4%, 35,1% и 61% в каждом случае. В 31,67% случаев определялись делеции хромосом 13q14/13q34 и 17p13, причём чаще регистрировалась del13q (23,33%). Необходимо отметить, что у 11 больных (18,33%) установлено два и более аномальных клона плазматических клеток. Комплексные аномалии хромосом достоверно чаще регистрировались у пациентов с тяжёлым течением заболевания и плохим ответом на проводимую противоопухолевую терапию. Установлена достоверная корреляционная связь между del(13)(q34) и t(4;14). Таким образом, нашими исследованиями показана необходимость определения изменений генотипа опухолевых клеток для прогнозирования клинического течения ММ и выбора адекватной тактики лечения, в том числе и при рефрактерных формах.

Оценка мутаций W515L/K в гене MPL и химерного онкогена BCR/ABL p210 у пациента с сочетанными хроническими миелолипролиферативными заболеваниями

Морданов С.В., Зельцер А.Н., Осипьян Э.Г., Бурнашева Е.В., Снежко И.В., Шатохин Ю.В.

ГБОУ ВПО РостГМУ Минздрава России, 344022, Ростов-на-Дону, Нахичеванский, 29 labmed@mail.ru

Несмотря на множество сведений о генетических поломках в кроветворных клетках при миелолипролиферативных заболеваниях (МПЗ), чётких представлений о механизмах их возникновения не сформировано. Возможно, выявление сочетания молекулярно-генетических маркёров разных МПЗ у одного и того же больного позволит уточнить патогенетические механизмы развития этих патологических процессов.

Целью работы является изучение взаимосвязи между мутацией гена W515L/K в гене MPL и транслокацией BCR/ABL p210 на особенности течения МПЗ и эффективность терапии. Материалом для исследования являлась тотальная РНК и геномная ДНК клеток крови пациентов. Количественная оценка мутации W515L/K в гене MPL проводилась с помощью аллель-специфичной ПЦР в режиме реального времени (real time-PCR), уровень транскрипта BCR/ABL p210 определяли с использованием набора реагентов «Ампли-Сенс Лейкоз Квант M-bcr-FRT» ООО Интерлабсервис (Россия).

Пациентке С., 72 лет, в январе 2012 г. на основании цитогенетического выявления Ph- хромосомы в клетках костного

мозга и обнаружения *BCR/ABL* гена в клетках крови, установлен диагноз хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ). С марта 2012 г. по настоящее время пациентка получает терапию иматинибом (400 мг/сут.). Через год лечения у больной достигнут молекулярный ответ (0,0047%). С августа 2013 г. у пациентки отмечается нарастание нормохромной анемии (Hb 95—87 г/л) и гипертромбоцитоза ($480\text{--}844 \times 10^9/\text{л}$), на фоне сохраняющейся молекулярно-генетической ремиссии ХМЛ. Это позволило предположить у пациентки наличие второго МПЗ. Гистологическое исследование костного мозга выявило признаки очагового периваскулярного коллагенового фиброза, что позволило поставить диагноз — *первичный миелофиброз* (ПМФ). В декабре 2013 г. пациентке было проведено молекулярно-генетическое исследование крови на определение мутаций *Jak2V617F* и *MPL* генов. В результате обследования была обнаружена мутация гена *W515L* в гене *MPL*, «аллельная нагрузка» *W515L* — 95,1%. Пациентке к проводимой терапии добавлен препарат гидреа 1000 мг/сут. В течение месяца количество тромбоцитов нормализовалось.

Приведённые данные позволяют предполагать, что в основе формирования МПЗ лежат клональные мутации, которые могут затрагивать как стволовые клетки, так и полипотентные клетки-предшественницы. Подавление одного опухолевого клона клеток, может привести к формированию или разрастанию другого клона.

Роль полиморфизма некоторых микросателлитных локусов в патогенезе нейродегенеративных заболеваний

Мороз А.А., Степанова М.С., Лысогорская Е.В., Федотова Е.Ю., Абрамычева Н.Ю., Ключников С.А., Иллариошкин С.Н.

ФГБНУ «Научный центр неврологии»
125367, Москва, Волоколамское ш., 80
moroz_anna@yahoo.co.uk

Экспансия tandemных микросателлитных повторов является причиной ряда наследственных моногенных нейродегенеративных заболеваний. Некоторые из генов, содержащих такие полиморфные микросателлиты, вовлечены в многокомпонентные метаболические пути, обеспечивающих ключевые функции нейронов. Для этих функций могут иметь значение не только отчётливо патологические, но и «промежуточные» по длине варианты экспансии. Актуальность оценки роли «промежуточных» по длине аллелей определяется также наличием сходных фенотипических проявлений при различных нозологических формах нейродегенерации.

Мы провели оценку вклада полиморфизма копий нуклеотидных повторов в генах *ATXN2* и *FMR1* в риск развития некоторых нейродегенеративных заболеваний в российской популяции.

Ген *ATXN2* (локус 12q24.1) состоит из 30 экзонов и кодирует белок атаксин-2. Первый экзон содержит полиглутаминовый тракт (CAG/CAA; полиQ), подверженный динамическим мутациям. В норме число tandemных копий CAG-повторов варьирует от 14 до 28. «Полная» экспансия, число CAG-копий больше 34, приводит к развитию прогрессирующей аутосомно-доминантной спиноцеребеллярной атаксии 2-го типа (СЦА2). «Промежуточный» интервал 28—33 повтора представляет собой «серую зону», которая, как показано в ряде недавних работ, увеличивает риск развития целого ряда нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Паркинсона (БП), боковой амиотрофический склероз (БАС) и др.

В нашей выборке больных с БП (445 пациентов) выявлено 18 случаев носительства «промежуточного» аллеля *ATXN2* в гетерозиготном состоянии (4,04%; $p = 0,046$, OR 2,93, 95% CI 1,01—9,12). В выборке пациентов с БАС (200 пациентов), выявлено 11 случаев гетерозиготного носительства «промежуточно-

го» аллеля (5,5%; $p = 0,026$, OR 3,37, 95% CI 1,13—10,39). В контрольной группе (353 неврологически здоровых людей) выявлено 5 случаев носительства (1,4%).

Ген *FMR1* (локус Xq27.3) содержит экспансию тринуклеотидных CGG-повторов в промоторной области которая приводит к различным клиническим нарушениям:

- 1) нормальные аллели содержат < 30 повторов;
- 2) полная мутация (более 200 CGG-повторов) приводит к появлению синдрома ломкой X-хромосомы;
- 3) при премутации (от 55 до 200 CGG-повторов) развивается синдром атаксии/тремора, ассоциированного с ломкой X-хромосомы;
- 4) «промежуточное» состояние (39—55 CGG-повторов) считается нестабильным и ассоциируется с риском развития паркинсонизма.

В нашей выборке пациентов с БП частота носительства «промежуточной» экспансии (число CGG-повторов варьировало от 39 до 43) составила 16,1% (11/68) а в контрольной группе — 3,2% (3/95) ($p = 0,004$; OR — 5,9, 95% CI 1,44—28,05).

Проведённый скрининг позволяет рассматривать наличие экспансии CAG-повторов в гене *ATXN2* как фактор риска развития болезни Паркинсона и бокового амиотрофического склероза, а наличие экспансии CGG-повторов в гене *FMR1* как фактор риска развития болезни Паркинсона в российской популяции.

Исследование проведено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (соглашение №14.607.21.0094 о предоставлении субсидий).

Роль длинных некодирующих РНК в развитии гастроинтестинальных стромальных опухолей (ГИСО)

Москалев Е.А.¹, Буре И.В.¹, Hofmann S.¹, Gholami A.M.², Schaefer I.M.³, Agaimy A.¹, Hartmann A.¹, Haller F.¹

¹ Институт патологии, Университет Эрлангена-Нюрнберга, Krankenhausstr. 8-10, 91054, Эрланген, Германия
-mail: evgeny.moskalev@uk-erlangen.de

² Кафедра протеомики и биоаналитики, Технический университет Мюнхена, Emil-Erlenmeyer-Forum 5, 85354 Фрайзинг, Германия

³ Институт патологии, Медицинский центр Университета Гёттингена, Robert-Koch-Strasse 40, 37075, Гёттинген, Германия

Многочисленная группа некодирующих РНК (нкРНК), число известных генов которых значительно превышает число белок-кодирующих генов человека, обладает мощным регуляторным потенциалом в клетке. В отличие от хорошо охарактеризованных микроРНК, единого механизма функционирования длинных нкРНК не существует. Их знания ограничены известными примерами транскриптов, вовлечённых в регуляцию эмбрионального развития, эпигенетических программ, поддержание плюрипотентности и другие ключевые процессы. Описанные ранее длинные нкРНК, обладающие онкогенными и онкосупрессорными свойствами, позволили предположить роль данного типа транскриптов в развитии ГИСО — генетически гомогенных опухолей с гетерогенным фенотипом (агрессивность, метастазирование). Для выявления нкРНК, способных детерминировать различия опухолевого фенотипа, был проведён полногеномный анализ экспрессии нкРНК с использованием микрочипов Affymetrix GeneChip 2.0 в образцах ГИСО ($n = 42$) различного риска прогрессирования. Выявлены дифференциально экспрессирующиеся транскрипты в опухолях разной агрессивности, и их экспрессия валидирована с помощью количественной ПЦР. Особое внимание уделено роли ассоциированной с метастазированием длинной нкРНК *HOTAIR*, посредством которой ингибиторные комплексы PRC2 специфично рекрутируются к множественным геномным участкам, вызывая репрессивное метилирование остатков лизина H3K27 в них. С использованием полногеномного ана-

лиза метилирования ДНК (Infinium HumanMethylation450 BeadChip) в клеточных линиях ГИСО G1ST T1 и G1ST48b зарегистрированы и подтверждены бисульфитным пиросеквенированием значимые изменения картины метилирования на фоне стабильного нокдауна по *HOTAIR*. Данный факт позволяет предположить вовлечённость нкРНК *HOTAIR* в детерминацию aberrантного метилирования ДНК в опухолях. Функциональная значимость, а также маркерный потенциал длинных нкРНК при ГИСО находится в стадии изучения.

Исследование вклада полиморфизма генов-кандидатов в развитие гипертонической болезни

Москаленко М.И., Миланова С.Н., Якунченко Т.И.

ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»
Россия, 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85
mariam31011989@yandex.ru

Гипертоническая болезнь (ГБ) представляет собой сложное мультифакториальное заболевание, отражающее взаимодействие между генетическим фоном индивида и различными компонентами окружающей среды. В ряде работ отечественных и зарубежных ученых показано, что в формировании ГБ вовлечены гены матричных металлопротеиназ (Palei A. C., 2008) и факторов некроза опухолей (Brian E. C., 2009). Однако вклад полиморфизма генов-кандидатов в развитие артериальной гипертензии остается в значительной степени не выясненным.

Цель исследования — изучить роль генетических полиморфизмов -1586C>T *MMP-2* (rs243865) и +36A/G *TNFR1* (rs767455) в формировании предрасположенности к ГБ.

Материалом для исследования послужили образцы ДНК, выделенной из цельной венозной крови. Выборку для исследования составили 418 больных ГБ и 528 индивидумов с нормотонией. Исследование проводили методом ПЦР с использованием олигонуклеотидных праймеров с последующим анализом полиморфизмов методом детекции TaqMan зондов (real-time ПЦР). При анализе распределения частот генотипов по изучаемым локусам эмпирическое распределение генотипов соответствовало теоретически ожидаемому при равновесии Харди—Вайнберга ($p > 0,05$).

Анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера *MMP-2* среди больных с ГБ выявил преобладание аллеля -1586 С *MMP-2* (75,93%), а частоты генотипов составили: -1586 СС — 57,69%, -1586 СТ — 36,30%, -1586 ТТ — 6,01%. В контрольной группе частота аллеля -1586 С *MMP-2* составила 76,49%. Частоты генотипов в контрольной группе составили: -1586 СС — 58,92%, -1586 СТ — 35,13%, -1586 ТТ — 5,95%. Анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера *TNFR1* среди больных с ГБ выявил незначительное преобладание аллеля +36 G *TNFR1* (54,33%), частоты генотипов составили: +36 АА — 21,66%, +36 АG — 48,03%, +36 G G — 30,31%. В группе контроля частота аллеля +36 G *TNFR1* составила 50,38%, частоты генотипов: +36 АА — 23,54%, +36 АG — 52,17%, +36 G G — 24,29%.

Сравнительный анализ частот аллелей и генотипов генов *MMP-2* и *TNFR1* между больными ГБ и контролем не выявил достоверных различий ($p > 0,05$).

Взаимосвязь экспрессии микроРНК и генов при раке молочной железы

Музаффарова Т.А.¹, Поспехова Н.И.¹, Поярко С.В.¹, Зенит-Журавлева Е.Г.¹, Кипкеева Ф.М.¹, Хайленко В.А.², Карпунин А.В.¹

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1
tatiana.muzaffarova@mail.ru

² ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина», 115478, Москва, Каширское ш., д. 24

Анализировали экспрессию генов, участвующих в прогрессии рака молочной железы (РМЖ), и ряда микроРНК в парах норма — опухоль при РМЖ. Методом количественной ПЦР в реальном времени была определена экспрессия 16 микроРНК (miR-10b, miR-21, miR-31, miR-155, miR-29a, miR-195, miR-192, miR-182, miR-125b, miR-145, miR-221, miR-222, miR-34a, miR-335) и 75 генов в 30 парах образцов (опухоль — норма) не подвергавшегося терапии РМЖ. Изучена зависимость экспрессии генов от уровня экспрессии микроРНК. Корреляция оценена для всех возможных (1184) пар микроРНК—ген. Выявлено 106 положительных корреляций, отрицательных — 24 ($r = 0,44-0,9$; $p = 0,0003-0,042$). Такой результат указывает на преобладание ко-транскрипционных процессов микроРНК и генов в опухолях молочной железы или, отчасти, на повышение транскрипции генов, например, вследствие деметилирования промотора гена при действии микроРНК. Частота отрицательных корреляций (2%) соответствует предсказанной на основе баз TargetScan и miRanda средней частоте взаимодействия микроРНК и генов. Это соответствие отражает наличие «обычного» процесса снижения активности генов в анализируемой группе генов и микроРНК при РМЖ. Наибольшее количество отрицательных корреляций экспрессии исследуемых генов наблюдалось для miR146a, miR155 и miR182. Все изученные микроРНК могут быть разделены на 3 группы:

- 1) только с положительной корреляцией;
- 2) смешанные;
- 3) только с отрицательной корреляцией.

Анализ с помощью интерактивной базы для раково-специфичных сетей miR-ON показал различные патогенетические пути, в которые вовлечены микроРНК разных групп. МикроРНК с положительными корреляциями связаны с процессами эпителиально-мезенхимального перехода (EMT), клеточным циклом и пролиферацией; смешанная группа связана с миграцией, инвазией и апоптозом.

Графическое оформление родословной: ошибки и возможные нововведения

Мхеидзе М.О.

Санкт-Петербург
Светлой памяти доктора В.А.Тихонова

Цель работы: анализ графического оформления родословных, выявление распространённых ошибок и поиск символов, отражающих практическое использование ЭКО

Аналізу подвергнуто более 2000 родословных из историй болезни и публикаций в отечественных и зарубежных источниках.

Следующие ошибки являются наиболее распространёнными при графическом изображении родословного древа:

- 1) отсутствие горизонтальной линии потомства и низведение символов сибсов, полусибсов, сиблингов и т.п. от линии брачного союза непосредственно;
- 2) расположение символов между поколениями («зависание» символов);
- 3) нарушение правила равноудалённости поколений друг от друга;
- 4) нарушение изображения порядка рождения детей у одной и той же супружеской пары (нарушение правила от старших к младшим);
- 5) неправильная, инвертированная нумерация поколений;
- 6) неправильная сквозная нумерация символов в каждом поколении;
- 7) пересечение линии брачного союза нисходящей линией к потомству родных братьев/сестер супругов;
- 8) неправильное изображение символа беременности и использование букв «М» и «Ж» для уточнения пола будущего

ребёнка вместо соответствующих символов половой принадлежности;

9) запись уточняющей информации в пределах схемы родословной: нарушение правила «только символы, нумерация поколений и каждого символа в поколениях, вся информация в легенде».

Основываясь на анализе зарубежных публикаций можно рекомендовать использование следующих символов: а) бездетный брак, б) изображение спонтанных и медицинских абортос с уточнением наличия и/или отсутствия патологии у плода, его пола.

При конструировании родословной, отражающей использование ЭКО, важно создать зрительный акцент на биологических родителях будущего ребёнка. С этой целью можно использовать полужирное начертание символов биологических родителей, кроме того, донорство герминативных клеток можно изобразить прерывистой линией, а символ суррогатной матери — в виде круга, внутрь которого включен символ беременности. В документированных случаях к символу ЭКО может быть добавлен символ бесплодного брака. Все детали медицинской истории и варианты медицинского вспоможения должны быть вынесены в легенду.

Плацентарный фактор роста как прогностический маркер развития преэклампсии и связь генетических вариантов с уровнем PIGF у беременных с преэклампсией

Нагимтаева А.А., Боровикова А.В., Жумажанова Д.К., Абильдинова Г.Ж.

АО «Национальный научный центр материнства и детства» Республика Казахстан, г.Астана, пр. Туран, 32 almanja@mail.ru

Плацентарный фактор роста (PIGF) является одним из важнейших регуляторов формирования плаценты и васкуляризации её ворсин. За последние годы появились данные о возможном прогнозировании преэклампсии в ранние сроки беременности на основе изучения факторов роста.

Под наблюдением находились 70 беременных с преэклампсией лёгкой и тяжёлой степени (основная группа) и 50 здоровых беременных (контрольная группа). Всем пациенткам проводилось тестирование генов предрасположенности к преэклампсии. Критическим значением PIGF в прогнозе развития тяжёлой преэклампсии у беременных является его уровень ниже 100 пг/мл. При анализе уровней PIGF в сыворотке крови беременных основной и контрольной групп оказалось, что у беременных с преэклампсией уровень PIGF достоверно ниже ($p < 0,01$), чем у беременных контрольной группы (соответственно 68,6% и 12%). Низкий уровень PIGF (ниже 100 пг/мл) в сыворотке крови беременных свидетельствовал о высоком риске развития преэклампсии, что подтверждается корреляционной связью между уровнем PIGF и тяжестью преэклампсии ($r = 0,43$).

Выявлены ассоциации молекулярно-генетических маркеров генов фолатного цикла, генов факторов свертывания крови, генов эндотелия сосудистой стенки, генов сосудистой с уровнем плацентарного фактора роста у беременных с преэклампсией. Установлено, что у беременных с наличием мутантного аллеля гена *MTHFR* 677T и с генотипом *AGT* 521T, а также имеющих гомозиготный вариант (TT) гена *eNOS*₃, отмечалась наименьшая концентрация PIGF 76,3 пг/мл и 87,3 пг/мл и 43,2 пг/мл соответственно. Доля PIGF оказалась максимальной у беременных с мутациями в генах: *F5* 1691A (254,3 пг/мл) и *F2* 20210A (217,6 пг/мл). Также в группе беременных с преэклампсией с генотипами — *MTHFR* A1298C и *AGT* T704C, уровень PIGF оставался в пределах нормы (128,7 пг/мл и 143,5 пг/мл соответственно).

Результаты проведённых исследований согласуются с ранее полученными данными.

Феномен парадоминантного наследования при многофакторных заболеваниях человека

Назаренко М.С.^{1,3}, Марков А.В.^{1,3}, Слепцов А.А.^{1,3}, Лебедев И.Н.^{1,3}, Саженова Е.А.¹, Фролов А.В.², Барбараш О.Л.², Пузырев В.П.^{1,3}

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской генетики», г.Томск

e-mail: maria.nazarenko@medgenetics.ru

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г.Кемерово

³ Национальный исследовательский Томский государственный университет, г.Томск

В рамках разрабатываемых теорий соматической мутационной изменчивости особое внимание привлекает механизм «парадоминантного наследования», сочетающий в себе компоненты унаследованной генетической предрасположенности к заболеванию и соматических мутаций, возникающих в ходе онтогенеза. Концепция парадоминантного наследования изначально была предложена для объяснения этиологии ряда наследственных синдромов, проявляющихся патологией кожных покровов — синдромом МакКьюна—Олбрайта, пигментные невусы Беккера. Однако совсем недавно доказательства парадоминантного наследования неожиданно были приведены для локальных структурных нарушений, которые возникают в ходе васкулогенеза, ангиогенеза и лимфангиогенеза. Можно предположить, что данный феномен свойственен многим патологическим процессам у человека, в частности, таким широко распространённым заболеваниям сердечно-сосудистой системы, в основе которых лежит атеросклероз сосудов соответствующих локализаций. В настоящей работе с помощью микроципового анализа на платформе Infinium Human Methylation27 BeadChip «Illumina» охарактеризован уровень метилирования 27578 CpG-сайтов, локализованных в 14475 генах, в тканях сосудистого русла больных атеросклерозом, экстраэмбриональной мезодерме спонтанных и медицинских абортосов I триместра с нормальным кариотипом. В результате установлены различия профиля метилирования ДНК тканей сосудистой стенки при атеросклерозе и в группе внутриутробно погибших эмбрионов, выявлены дифференциально метилированные гены, эпигенетический статус которых изменяется в соответствии с гипотезой парадоминантного наследования.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФ (соглашение №14-15-00305) и Президента Российской Федерации (соглашение №14.120.14.5096-НШ).

Возможные пути решения проблем редких (орфанных) болезней

Назаренко Л.П.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской генетики», г.Томск

e-mail: ludmila.nazarenko@medgenetics.ru

Важной задачей современной медицинской науки становится участие в модернизации системы здравоохранения для повышения качества и эффективности диагностики, профилактики, а в перспективе, и лечения редких (орфанных) наследственных болезней. Решение этой задачи видится в тесном альянсе фундаментальных и прикладных исследований. Отметим лишь некоторые приоритетные области такого взаимодействия.

— анализ сетей орфанных болезней и орфанных генов для понимания закономерностей эволюционного происхождения и взаимодействия локусов генома, ответственных за возникновение редких наследственных болезней;

— определение популяционной специфичности мутаций в генах наследственных болезней и новых типов генетических полиморфизмов в геноме человека и внедрение технологий мульти-

плексного и полногеномного генотипирования в исследовательскую и клинико-диагностическую практику;

— секвенирование генома пациента и его клиническая интерпретация;

— развитие технологий неинвазивной пренатальной диагностики наследственных болезней на основе анализа внеклеточных нуклеиновых кислот плода в крови матери и оптимизация существующих алгоритмов пренатальной диагностики хромосомных и моногенных заболеваний;

— внедрение технологий преимплантационной генетической диагностики для решения задач профилактики и диагностики наследственных болезней;

— использование клеточных технологий для моделирования наследственных заболеваний с целью определения потенциальных мишеней лекарственной терапии;

— развитие прецизионной медицины, направленной на причину, а не на симптомы наследственной болезни;

— создание национального регистра наследственных заболеваний.

Реализация сформулированных задач создаёт предпосылки для развития нового направления в здравоохранении, получившего название «трансляционная медицина», основной целью которого является применение достижений фундаментальной науки для максимально эффективного перевода научных исследований в инновации, востребованные на рынке медицинских услуг с учётом региональных потребностей и тенденций развития мировой биомедицинской науки.

Роль генов цитокинов и их рецепторов в развитии ювенильного артрита

Назарова Л.Ш.¹, Данилко К.В.¹, Викторова Т.В.^{1,2}, Малиевский В.А.¹

¹ ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, 450000, г.Уфа, ул. Ленина, 3; e-mail: lilitnaz19@mail.ru

² ФГБУН ИБГ УНЦ РАН, 450054, г.Уфа, просп. Октября, 71

Ювенильный артрит (ЮА) — артрит неустановленной этиологии, продолжительностью более 6 недель, развивающийся у детей в возрасте не старше 16 лет при исключении другой патологии суставов. В ряде исследований была показана ассоциация полиморфных вариантов генов цитокинов (*TNFA*, *LTA*, *IL1B*, *IL2*, *IL6*, *IL10*, *MIF* и др.) и их рецепторов с развитием ЮА и других аутоиммунных заболеваний.

Цель исследования: поиск возможных ассоциаций полиморфных вариантов генов цитокинов и их рецепторов: rs1800629 (-308G>A) гена *TNFA*, rs909253 (252A>G) гена *LTA*, rs16944 (-511C>T) гена *IL1B*, rs6822844 (G>T) локуса *IL2-21*, rs2104286 (A>G) гена *IL2RA*, rs1800795 (-174G>C) гена *IL6*, rs1800872 (-592C>A) гена *IL10*, rs755622 (-173G>C) гена *MIF* с повышенным риском развития ЮА и его подтипов.

В исследование было включено 254 пациента с ЮА, проходивших лечение в Республиканской детской клинической больнице в 2010—2014 гг., и 204 добровольца без аутоиммунных заболеваний в анамнезе в качестве контрольной группы. Генотипирование проводилось методами ПЦР-ПДРФ анализа и ПЦР в реальном времени, статистическая обработка результатов — в программах Microsoft Excel, SNPStats.

Установлено, что у больных с ЮА по сравнению со здоровыми индивидами достоверно повышена частота аллеля G гена *LTA* ($p = 0,024$), гаплотипа G-G генов *TNFA* и *LTA* ($p = 0,0009$), генотипа CC и аллеля C гена *IL6* ($p = 0,026$ и $p = 0,021$ соответственно), генотипа GG и аллеля G гена *MIF* ($p = 0,026$ и $p = 0,033$ соответственно). После стратификации больных в соответствии с классификацией ILAR оказалось, что у больных с РФ-негативным полиартритом значимо выше доля генотипа GG и аллеля G гена *MIF* ($p = 0,005$ и $p = 0,013$ соответственно) по сравнению с группой больных с персистирующим олигоартритом — аллеля G гена *LTA* ($p = 0,019$), генотипа CC и аллеля C гена *IL6* ($p = 0,005$ и

$p = 0,012$ соответственно), генотипа CC и аллеля C гена *IL10* ($p = 0,019$ и $p = 0,022$ соответственно); у пациентов с энтезитным артритом — генотипа AG гена *LTA* ($p = 0,018$), генотипа TT гена *IL1B* ($p = 0,038$), генотипа GG и аллеля G гена *MIF* ($p = 0,038$ и $p = 0,050$ соответственно). Гаплотип G-G генов *TNFA* и *LTA* преобладал в двух последних подгруппах ($p = 0,0016$ и $p = 0,018$ соответственно).

Таким образом, полиморфные варианты генов цитокинов: *TNFA* (-308G>A), *LTA* (252A>G), *IL1B* (-511C>T), *IL6* (-174G>C), *IL10* (-592C>A), *MIF* (-173G>C), — ассоциированы с повышенным риском развития ЮА и/или его подтипов.

Анализ сочетаний полиморфных маркёров генов факторов воспаления как потенциальных предикторов инфаркта миокарда

Насибуллин Т.Р.¹, Ягафарова Л.Ф.^{1,2}, Ягафаров И.Р.², Тимашева Я.Р.¹, Эрдман В.В.¹, Туктарова И.А.¹, Мустафина О.Е.¹

Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, г.Уфа, Россия NasibullinTR@yandex.ru

МЧО ОАО «Татнефть» и г.Альметьевска, г.Альметьевск, Россия

Инфаркт миокарда (ИМ), как другие многофакторные заболевания, развивается в результате взаимодействия множества генетических и внешнесредовых факторов, причём в большинстве случаев наблюдается нелинейное взаимодействие элементов системы, что во многом определяет противоречивость результатов по отдельным полиморфным маркёрам.

Цель исследования — в группе больных с ИМ и контрольной группе провести анализ сочетаний полиморфных маркёров rs1205 (ген *CRP*), rs1136743 (ген *SAAT*) rs991804 и rs1024611 (ген *CCL2*), rs1799864 (ген *CCR2*), rs3732378 (ген *CX3CR1*), rs1801157 (ген *CXCL12*), rs333 (ген *CCR5*), rs2471859 (ген *CXCR4*), rs4074 (ген *CXCL1*), rs4073 (ген *CXCL8*), rs1126579 (ген *CCR2*), rs2569190 (ген *CD14*). Группу больных составили 217 мужчин, перенёсших ИМ в возрасте до 60 лет, контрольная группа — 250 мужчин в возрасте от 30 до 67 лет без клинических признаков сердечно-сосудистой патологии. Все участники исследования сформированы из этнической групп татар (г.Альметьевск). Анализ ассоциаций сочетаний аллелей/генотипов с ИМ проводился с помощью программы APSampler 3.6.0.1 (<https://code.google.com/p/apsampler/>), в качестве поправки на множественность сравнений использовался пермутационный тест.

Из полученных сочетаний, наиболее значимыми предикторами заболевания оказались rs2471859(*CXCR4*)*C + rs2569190(*CD14*)*C + rs991804(*CCL2*)*C + rs333(*CCR5*)*I/D (больные 12,9%, контроль 2,4% $P_{perm} = 0,00004$ OR = 6,02 95%CI 2,44—14,05), rs1126579(*CXCR2*)*C + rs2569190(*CD14*)*C + rs1801157(*CXCL12*)*G + rs991804(*CCL2*)*C + rs333(*CCR5*)*D (больные 12,44%, контроль 2,4% $P_{perm} = 0,0003$ OR = 5,78 95%CI 2,34—14,28), rs2569190(*CD14*)*C + rs991804(*CCL2*)*C/C + rs333(*CCR5*)*I/D (больные 10,6%, контроль 2% $P_{perm} = 0,0017$ OR = 5,81 95%CI 2,17—15,56), rs1126579(*CXCR2*)*T/T + rs991804(*CCL2*)*C/T (больные 6,45%, контроль 17,2% $P_{perm} = 0,004$ OR = 0,33 95%CI 0,17—0,63), rs4074(*CXCL1*)*A/G + rs2569190(*CD14*)*T + rs2471859(*CXCR4*)*C + rs1024611(*CCL2*)*G (больные 4,6%, контроль 0% $P_{perm} = 0,012$ OR = 8,98 95%CI 2,56—31,48), rs1136743(*SAAT*)*T + rs1205(*CRP*)*T + rs1799864(*CCR2*)*A/G + rs3732378(*CX3CR1*)*A (больные 5% контроль 0,4% $P_{perm} = 0,014$ OR = 13,3 95%CI 1,7—103,84).

Представленные сочетания, в случае их верификации на независимой выборке, могут служить информативными маркёрами риска ИМ.

Анализ гена *CFTR* у больных с классической и атипичной формами муковисцидоза

Насыхова Ю.А.¹, Иващенко Т.Э.¹, Гембицкая Т.Е.², Орлов А.В.³, Черменский А.Г.², Степаненко Т.А., Баранов В.С.¹

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург, РФ

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, РФ

³ СПб ГБУЗ «Детская городская больница Святой Ольги», Санкт-Петербург, РФ

Муковисцидоз (МВ) (кистозный фиброз поджелудочной железы) — наиболее распространённое, тяжёлое моногенное заболевание, наследуемое по аутосомно-рецессивному типу. В настоящее время после рутинной генетической диагностики, включающей исследование наиболее распространённых мутаций гена *CFTR* (20-35) остаются неопределёнными примерно 30% мутаций. Нами было проведено исследование гена *CFTR* (промоторная область, экзоны и наиболее важные регуляторные области интронов) в образцах ДНК от пациентов с МВ (пациенты с классической формой МВ — 71%, пациенты с атипичной формой — 29%) без установленных одной или двух мутаций гена *CFTR*. Для исключения протяжённых инсерций/делений гена *CFTR* был использован метод MLPA.

Обнаружены 5 редких мутаций с достаточно высокой частотой в нашей выборке 3849+10kbC/T (2%), E92K (3%), 489+1G>T (2%), Ser1231ProfsX4 (3%), L1335P (3%). Идентифицированы четыре ранее неописанные мутации 3816_3817 delTG (экзон 23), E92A (экзон 4), K1468R (экзон 27), Ile1328Lys (25 экзон). У 1 пациента выявлена протяжённая делеция с 3 по 10 интрон CFTR40kdel ((?_274)_(1584_?)del).

В результате проведённого исследования определены мутации на 85,6% исследованных CF-хромосомах. Среди пациентов с классической формой МВ выявлены мутации гена *CFTR* в 94%, в то время как при нетипичном характере течения МВ идентифицировано только 61% мутаций. Это указывает на вероятность существования неизвестных мутаций в некодирующих областях гена, связанных с нарушением регуляции его экспрессии либо процессинга белка.

Роль полиморфных вариантов генов холецистокининергической системы мозга в патогенезе панических расстройств

Наумова Е.А.¹, Афончикова Е.В.¹, Азимова Ю.Э.², Фокина Н.М.², Кондратьева Н.С.¹, Рудько О.И.¹, Кокаева З.Г.¹, Климов Е.А.^{1,3}

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия
ea_pow@mail.ru

² Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия

³ Университетская диагностическая лаборатория, Москва, Россия

Паническое расстройство (ПР) — многофакторное заболевание (F41.0 — МКБ-10), основным симптом которого являются повторные, неожиданно возникающие и не ограничиваемые какой-либо конкретной внешней ситуацией панические атаки. В настоящее время одну из ведущих ролей в этиологии расстройств тревожного ряда, в том числе ПР, приписывают холецистокининергической системе мозга, которая вовлечена в регуляцию уровня тревожности посредством модуляции дофаминергической системы. Предполагается, что полиморфизм генов, кодирующих холецистокинин и его рецепторы, может обуславливать предрасположенности к ПР. Целью нашей работы было выявление

ассоциированных с ПР комплексных гаплотипов генов рецепторов холецистокинина *CKK1R* (замены: rs1800908, rs1799723, rs1800857) и *CKK2R* (rs1805002, rs1805000), а также гена *CKK* (rs11571842, STR) с паническим расстройством у жителей Московского региона. Пациенты (n = 124) с диагнозом *паническое расстройство* были отобраны в соответствии с DSM-V, основным критерием для включения пациентов в исследование было наличие у них панических атак не реже 1 раза в месяц. В качестве контроля в работе использовались 373 образца ДНК необследованных жителей Москвы и Московского региона. Анализ однонуклеотидных замен проводили методом ПЦР-ПДРФ (оборудование Bio-Rad, реагенты ООО Лаборатория Изоген, ферменты НПО Сибэнзим), STR — фрагментный анализ (ABI3500). Статистический анализ проведён с использованием программы APSampler 3.6. Нами выявлено 14 ассоциированных с заболеванием гаплотипов. Самое сильное влияние на формирование ПР оказывает сочетание аллелей *CKK1R*_rs1800908:T + *CKK1R*_rs1799723:A,A. Этот составной маркер даёт максимальное (в 9 раз) возрастание риска заболевания.

Распределение частот полиморфных вариантов генов-кандидатов у больных с хронической болезнью почек

Некипелова Е.В., Чурносоев М.И., Жернакова Н.И., Ефремова О.А.

ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», кафедра медико-биологических дисциплин

308015, г. Белгород, ул. Победы 85
nefrokb@mail.ru

Целью работы был поиск ассоциаций генетических полиморфизмов с развитием хронической болезни почек (ХБП).

В работе использованы данные генотипирования 1413 чел. (837 больных ХБП и 576 чел. контроля), являющихся уроженцами Центрального Черноземья России по 55 генетическим полиморфизмам. Среди них было 408 больных хроническим гломерулонефритом (ХГН), 314 — хроническим пиелонефритом и 112 — диабетической нефропатией.

При сравнительном анализе распределения частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров изученных генов установлены достоверные различия между больными ХБП и контролем. Среди больных ХБП частоты генетических вариантов 1507T *IL4R*, 180T *IL1RN*, 180TT *IL1RN*, 1247A *IL4R*, 121-976G *PARP1*, 1119T *NQO1*, -932T *CYBA*, 518A *GPX2*, 518AC *GPX2*, 1962+11176GT *WDR72* выше, а распространённость полиморфных вариантов 1507CC *IL4R*, 180CT *IL1RN*, 518CC *GPX2*, 1962+11176TT *WDR72* ниже по сравнению с контрольной группой (p<0,05—0,001).

Полиморфизмы генов цитокинов (*IL4R* с.1507T>C, *IL1RN* с.180T>C), антиоксидантной системы (*NQO1* с.*1119T>C, *CYBA* с.-932C>T, *GPX2* с.518C>A) и участвующих обмене креатинина (*WDR72* с.1962+11176T>G), ассоциированы с развитием ХБП.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГАОУ ВПО «НИУ БелГУ» на 2015 г. (тема проекта: Изучение генетических факторов риска развития мультифакториальных заболеваний человека).

Моногенные наследственные синдромы с признаками врождённых расщелин губы и/или нёба на территории Краснодарского края

Нехорошкина М.О., Голубцов В.И., Матулевич С.А., Бушуева О.Ю.

ГОУ ВПО КубГМУ, Краснодар, ул. Седина, 4
nekhoroshkina@ro.ru

Врождённые расщелины губы и/или нёба (ВРГ и/или Н), являются мультифакториальными заболеваниями. Проведённый мониторинг частоты и нозологических форм ВПР в различных регионах позволил оценить распространённость ВРГ и/или Н, проанализировать динамику частоты и этиологические факторы тератогенеза в отдельных популяциях. Целью данного исследования является изучение структуры и доли моногенно наследуемых синдромов с признаками ВРГ и/или Н, родившихся в Краснодарском крае (КК) за период 1996—2012 гг. В этот период в крае родилось 920 471 детей, у 2,45% из них диагностированы ВПР, из которых 4,5% составили ВРГ и/или Н, что определило популяционную частоту этого порока на территории КК — 1,11%. Клинико-генеалогический анализ, проведённый в семьях больных, позволил установить аналогичную патологию у 41 (5,06%) родственника пробандов, в том числе: у четырёх больных аналогичная патология была выявлена у одного из родителей, у 22 — ВРГ и/или Н диагностированы у сибсов, а у 15 — среди родственников разной степени. У 769 осмотренных нами больных данный ВПР оценён как спорадический вариант патологии, из которых у 98 (12,1%) больных с МВПР было диагностировано 13 моногенных наследственных синдромов с разными типами наследования, в том числе: Аномалад Пьера Робена — 3,82%; Гольденхара — 1,48%; Ваарденбурга — 0,37%; Ван дер Вуда — 0,12%; Грима Кабуки — 0,12%; Адамса—Оливера — 0,12%; Опица тригоноцефалии — 2,09%; Робинова — 1,11%; Ларсена — 0,86%; Меккеля—Грубера — 0,75%; оро-фацио-дигитальный — 0,75%; Ноя—Лаксовой — 0,25%; Фримена—Шелдона — 0,25%. Следовательно, наиболее часто диагностируемыми среди обследованных больных с ВРГ и/или Н является синдром Пьера Робена. Популяционная частота ВРГ и/или Н на территории КК сопоставима с показателями других регионов РФ.

Подходы к оценке генетической гетерогенности клеточных культур человека, предназначенных для научных и биомедицинских целей

Никитина В.А.

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»,
Москва, ул. Москворечье, 1
nikitinava@yandex.ru

В биотехнологии, фармакологии, медицине, а также в фундаментальных научных исследованиях используется большое количество клеточных культур, имеющих разное видовое и тканевое происхождение. Сохранение исходных или направленно измененных свойств и адекватная оценка качества клеточных культур до начала их использования во многом определяет успешность решения поставленной задачи. Все клетки подвержены мутационной изменчивости, которая не может быть скорректирована в условиях *in vitro* при культивировании, и приводит к изменению кариотипа и генотипа, а, следовательно, и биологических свойств клеточных линий.

Генетическая гетерогенность клеточных культур определяется наличием в их составе генетически различающихся клеток. Это может быть вызвано как внешними (меж- и внутривидовая кросс-контаминация), так внутренними факторами (клональные и неклональные хромосомные и геномные aberrации). По данным международного комитета по аутентификации клеточных линий, 24% клеточных культур контаминированы клетками линии HeLa. Наиболее эффективным методом аутентификации признано типирование по STR-локусам. Однако в постоянных клеточных линиях высока степень вариабельности их числа, что связано с потерей гетерозиготности при анеуплоидии, возникновении однородительской дисомии или

хромосомных транслокаций в процессе кариологической эволюции при длительном культивировании.

Анализ кариотипа также позволяет провести аутентификацию и оценить изменчивость клеточной популяции по описанию кариотипически сходных клональных и нестабильных хромосомных и геномных aberrаций. Кроме того, для оценки возможности генетической изменчивости могут применяться методы классической генотоксикологии: гель-электрофореза отдельных клеток и микроядерный тест.

Варианты представления клеточных линий, предвещающие их использование как модельной системы или высокотехнологичного лекарственного препарата, могут включать несколько этапов тестирования, таких, как STR-типирование, анализ кариотипа с описанием субклонов (спектральное кариотипирование), FISH анализ, оценку уровня повреждений ДНК и частот микроядер.

На примере определения этих параметров в клетках постоянной (K562) и диплоидных (МСК, ФЭЧ) клеточных линий показана возможность оценки клонообразования и повышения количества клеток с нестабильными неклональными хромосомными и геномными aberrациями при культивировании *in vitro*.

Аберрантная экспрессия микроРНК при раке гортани

**Никитина Е.Г., Черемисина О.В.,
Кульбакин Д.Е., Литвяков Н.В.**

Томский НИИ онкологии,
634050, Россия, г.Томск, пер. Кооперативный, 5
ekatarinanikitina@gmail.com

МикроРНК относятся к классу малых молекул-регуляторов, которые потенциально способны контролировать до 1/3 генома человека. МикроРНК играют важную роль в регуляции биологических процессов всех систем, а нарушение их экспрессии может иметь тяжёлые последствия для клетки.

Цель — анализ экспрессии микроРНК в опухолевой ткани больных карциномами гортани.

В работе использован парный биопсийный материал (патологически изменённая и прилежащая условно-нормальная ткань) мужчин с первичным гистологически верифицированным плоскоклеточным раком гортани (n = 46). Уровень экспрессии микроРНК в ткани рассчитан согласно методу Pfaffl, в качестве гена-рефери использована микроРНК-103. Статистическая обработка данных произведена с применением t-теста Стьюдента с применением критерия Бенджамини—Хохберга (FDR — false discovery rate).

Согласно результатам исследования, для некоторых микроРНК выявлен аберрантный уровень экспрессии в опухолевой ткани относительно прилежащей условно-нормальной ткани. Установлена гиперэкспрессия онкогенных микроРНК-21, -155 и -205 (p = 0,00005, p = 0,00008 и p = 0,00085 соответственно) и гипоэкспрессия онкосупрессорной микроРНК-200a (p = 0,003), что согласуется с данными литературы, полученными на опухолях разных локализаций, в том числе и на опухолях головы и шеи. Показано, что уровень экспрессии анализируемых микроРНК значимо не отличается в подгруппах в зависимости от распространённости опухолевого процесса. Связь степени дифференцировки опухолевой ткани с экспрессией выявлена для микроРНК-18a (p = 0,01), а для микроРНК-200c (p = 0,018) показана гиперэкспрессия при наличии лимфогенных метастаз. Однако значения p для этих микроРНК не удовлетворяют поправке FDR. Показатели общей выживаемости на примере 36 прослеженных пациентов с повышенной и пониженной экспрессией анализируемых микроРНК была схожа и статистически не различалась. Полученный результат может быть следствием выбора тех микроРНК, для которых в целом показана существ-

венная роль в канцерогенезе опухолей разных локализаций и которые принимают непосредственное участие в регуляции ключевых этапов этого процесса, что обуславливает отсутствие специфики паттерна экспрессии в зависимости от клинико-патологических характеристик и исхода заболевания.

Случай сочетанной генетической патологии фенилкетонурии и муковисцидоза

Никитина Н.В., Беляева Т.И., Подолкина В.К., Иванова Т.А., Лобанова А.В., Дерябина С.С., Лагутина О.В., Тиунова Е.Ю.

ГБУЗ Свердловской области «Клинико-диагностический центр «Охрана здоровья матери и ребёнка», 620067, г.Екатеринбург, ул.Флотская, 52
nikitinanv@list.ru

Пробанд 2014 г.р., от 2 беременности (1 беременность закончилась срочными родами в 2003 г., ребёнок здоров). Семья европеоидной расы, инбридинг исключает. Срочные роды, мальчик массой 4335 г, длиной 55 см, оценка по шкале Апгар 6/8 баллов. В роддоме выявлена врождённая аномалия развития — вентральная грыжа в верхней части передней брюшной стенки по средней линии. При проведении неонатального скрининга уровень фенилаланина (ФА) крови 15,9 мг/дл, уровень иммунореактивного трипсина (ИРТ) — 163,2 нг/мл. Семья была приглашена координационной группой лаборатории неонатального скрининга на приём генетика. Уровень ФА крови составил 19,6 мг/дл, начата диетотерапия фенилкетонурии. ИРТ на 21 день жизни — 138,7 нг/мл. Проведён потовый тест на анализаторе Nanoduct фирмы Wescog, уровень хлоридов пота повышен — 102 ммоль/л. В дальнейшем обследован в ОДКБ №1, хлориды пота на анализаторе Macroduct, Wescog №2 — 104 ммоль/л, №3 — 125 ммоль/л. Уровень панкреатической эластазы менее 15 мкг/г кала. Ребёнок определён под наблюдение и лечение в Центр муковисцидоза ОДКБ №1. ДНК-диагностика проведена в лаборатории молекулярной диагностики Центра. В гене трансмембранного регуляторного белка CFTR обнаружена мутация DelF508 в гомозиготном состоянии. В гене фенилаланин-гидроксилазы PAH обнаружена мутация R281L в гомозиготном состоянии. Планируется ДНК-диагностика семьи.

В настоящее время ребёнку 6 мес., физическое и нервно-психическое развитие по возрасту. Находится на диетотерапии ФКУ, проводится терапия креоном, урсофальком, АЦЦ, ингаляции пульмозимом, кинезитерапия, ЛФК, постуральный дренаж.

Вероятность сочетания ФКУ и муковисцидоза у одного индивида очень низкая. Прогноз двух патологий и подходы к терапии могут зависеть от их сочетания. За период наблюдения мы отмечаем уровень ФА крови менее 1–2 мг/дл при стандартном расчёте диетотерапии, что может быть связано с особенностями метаболизма при муковисцидозе. Психологические аспекты медико-генетического консультирования в семье крайне сложны, принятие диагнозов происходило тяжело, но все рекомендации по лечению ребёнка родителями соблюдаются.

Сравнительный анализ хромосомных аномалий при привычном и спорадическом невынашивании беременности

Никитина Т.В., Саженова Е.А., Суханова Н.Н., Толмачева Е.Н., Лебедев И.Н.

НИИ медицинской генетики,
г.Томск, 634050, ул. Набережная р.Ушайки, 10
t.nikitina@medgenetics.ru

Привычное невынашивание беременности (ПНБ) — это наличие в анамнезе женщины двух и более самопроизвольных прерываний беременности в сроках до 22 недель. Примерно у половины пациенток выявляются известные клинические причины выкидышей, однако у другой половины семей повторные аборт вызваны неустановленными факторами. Их поиск имеет большое значение как для понимания биологических механизмов взаимодействия матери и эмбриона, так и для акушерской практики. Большинство случаев ПНБ вызвано аномалиями кариотипа эмбриона, но прямое сравнение кариотипов привычных и спорадических абортусов не согласуется с этим предположением.

Учитывая, что подобные исследования были сделаны на ограниченных по объёму выборках, мы провели масштабный сравнительный анализ цитогенетических нарушений у погибших эмбрионов при ПНБ (две и более потери беременности, $n = 462$) и при спорадических абортах (СА, $n = 479$), прокаротипированных в Томском НИИ медицинской генетики в 1987–2014 гг. В выборках ПНБ и СА средний возраст женщин составил $28,9 \pm 6,11$ и $28,5 \pm 5,97$ года, срок беременности — $9,6 \pm 2,8$ и $9,8 \pm 2,8$ недель соответственно.

Частота эмбрионов с нормальным кариотипом была статистически значимо выше в группе с ПНБ, чем в группе СА (54,7% и 44,3% соответственно, $p = 0,002$). При этом спектр хромосомных мутаций в целом не отличался. Основную долю составляли трисомии аутосом (42,7% и 41,8%), далее по частоте встречаемости шли тетраплоидии (19,1% и 21,7%), триплоидии (14,1% и 18,4%), аномалии половых хромосом (10,6% и 9,0%) и структурные перестройки (2,5% и 2,0%), представленные практически в равных пропорциях в обеих выборках. Единственным типом аномалий, по которому статистически значимо различались выборки, оказались двойные трисомии, частоты которых составили 4,5% среди привычных выкидышей и 1% среди спорадических ($p = 0,015$). Обнаружена статистически значимо более высокая частота абортусов с нормальным кариотипом у молодых женщин (до 37 лет) с ПНБ по сравнению с женщинами того же возраста, имевшими СА. Для женщин старше 38 лет достоверных отличий по частоте абортусов с нормальным кариотипом между группами с ПНБ и СА выявлено не было.

Таким образом, вклад различных причин в этиологию ПНБ отличается для женщин разного возраста: у молодых пациенток среди причин привычного выкидыша преобладают не цитогенетические факторы, у женщин старшей возрастной группы преобладает несбалансированный кариотип эмбриона.

Общность патогенеза болезни Паркинсона и лизосомных болезней накопления

Николаев М.А.^{1,3}, Нужный Е.П.², Емельянов А.К.^{1,2,3}, Усенко Т.С.^{1,2}, Якимовский А.Ф.², Захарова Е.Ю.⁴, Пчелина С.Н.^{1,2,3}

¹ ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова», Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»

² ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»

³ ФГБУ ВПОН «Санкт-Петербургский Академический университет — научно-образовательный центр нанотехнологий» РАН

⁴ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»

Болезнь Паркинсона (БП) — хроническое прогрессирующее заболевание, связанное с агрегацией нейронального белка альфа-синуклеина и развитием нейродегенерации. В последнее время накапливается все больше фактов, свидетельствующих об общности молекулярных механизмов БП и редких наследственных заболеваний, относящихся к классу лизосомных болезней накопления (ЛБН), связанных с дисфункцией лизосом.

Цель данного исследования заключалась в скрининге мутаций в генах ЛБН (мутации L444P и N370S в гене *GBA* (болезнь

Гоше); мутации *Pe177Thr* и *del 30kb* в гене *GALC* (болезнь Краббе); мутация *del 1,02kb* в гене *CLN3* (нейрональный цероидный липофуциноз 3 типа) среди пациентов с БП и в контрольной группе и оценке уровня олигомерного альфа-синуклеина в плазме пациентов с ЛБН, носителей мутаций в генах ЛБН и в контрольной группе.

В исследование вошло 330 пациентов, с БП (61,6 ± 9,4 года, 48,6% мужчин) и 250 индивидуумов контрольной группы (62,7 ± 10,3 года, 49,8% мужчин), соответствующих по полу и возрасту ($p > 0,05$). Был осуществлён скрининг мутаций в генах ЛБН *GBA* (N370S и L444P), *CLN3* (*del 1,02 kb*) и *GALC* (*del 30 kb* и *p.Pe177Thr*). Плазму крови получали из цельной венозной крови путём центрифугирования 20 мин, 3000 г. Исследование олигомерного альфа-синуклеина в плазме крови было проведено методом ИФА с использованием набора Human Synuclein OLIGO kit (aj Roboscreen, Германия). Нами были сформированы следующие группы пациентов: 41 пациент с болезнью Гоше (БГ), 5 пациентов с другими ЛБН (2 пациента с болезнью Ниманна—Пика тип С, 2 — с болезнью Краббе, 1 — с болезнью Вольмана), 40 пациентов контрольной группы. Также было обследовано 5 бессимптомных носителей мутаций в гене *GBA* (родители пациентов с БГ).

Нами выявлено 9 носителей мутаций среди пациентов с БП (6 — L444P и 3 — N370S) и один носитель мутации L444P в контрольной группе. ОР развития БП для носителей мутаций L444P и N370S составил 6,7 (ДИ 95% = 1,05—42,4, $p = 0,04$). Нами впервые был описан гетерозиготный носитель делеции 1,02 т.п.н. в гене *CLN3* с выраженными симптомами поражения экстрапирамидной системы. Впервые нами была проведена оценка уровня олигомерных форм альфа-синуклеина плазмы крови у пациентов с различными ЛБН (БГ, болезнь Краббе, болезнь Ниманна—Пика тип С, болезнь Вольмана). Было обнаружено достоверное повышение уровня олигомерного альфа-синуклеина как у пациентов с БГ ($p = 0,0001$), так и у большинства из пациентов с другими ЛБН.

Выводы. Полученные данные позволяют предположить, что мутации в генах, приводящих к развитию ЛБН, в частности в гене *GBA* (болезнь Гоше), существенно повышают риск развития БП (от 6 до 9 раз) путём влияния на метаболизм белка альфа-синуклеина, агрегация которого рассматривается в настоящее время как основной механизм нейродегенерации. Выявленное нами повышение олигомерных форм альфа-синуклеина в плазме крови у пациентов с различными ЛБН, позволило предположить, что нарушения активности и других лизосомных ферментов может приводить к увеличению уровня нейротоксичных форм альфа-синуклеина.

Исследование поддержано грантами РФФИ №13-04-01510; №14-04-31665.

Гетерогенные формы митохондриальных болезней у детей

Николаева Е.А.¹, Харабадзе М.Н.¹, Иткис Ю.С.², Шаталов П.А.¹, Новиков П.В.¹, Крылова Т.В.², Захарова Е.Ю.²

¹ Научно-исследовательский клинический институт педиатрии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, ул. Талдомская, д.2
enikolaeva@pedklin.ru

² ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Москва, ул.Москворечье, д.1

Проведён клинический анализ гетерогенных форм митохондриальных заболеваний у 65 детей в возрасте от 1 года до 16 лет. При обследовании пациентов использованы клинические методы, определение в крови КЩС, уровня молочной и пириновинной кислот, показателей карнитина, молекулярно-генетические методы выявления мутаций ядерной и мтДНК. Диагноз был установлен на основании совокупности

клинических и лабораторных данных и подтверждён результатами молекулярного исследования у большинства пациентов.

При дефектах мтДНК распределение больных ($n = 46$) по отдельным формам патологии было следующим. У 23 детей был установлен диагноз синдрома Кернса—Сейра: у 19 — полная форма, у 4 — неполная форма синдрома (без поражения проводящей системы сердца). Синдром MELAS был диагностирован у 14 пациентов (у большинства обнаружена мутация A3243G гена транспортной РНК лейцина), синдром MERRF — у 2 пациентов. Кроме того, у 2 детей выявлен синдром Ли, обусловленный мутациями в субъединицах комплексов I и 5 (T10191C в ND3 и G8839C в ATP6), у 2 — митохондриальная энцефаломиопатия и кардиомиопатия с мутациями в гене транспортной РНК лизина (T8362G и G8363A), у 2 (сибсы) — митохондриальная энцефаломиопатия с пирамидно-экстрапирамидным синдромом (мутация C3945A в ND1), у 1 — синдром NARP (мутация T8993C в ATP6).

При дефектах ядерной ДНК ($n = 19$) распределение больных по отдельным формам патологии было следующим. У 12 пациентов был диагностирован синдром Ли (в большинстве случаев установлены мутации гена *SURF1*), у 3 — лейкоэнцефалопатия с поражением ствола мозга, спинного мозга и повышенным уровнем лактата в мозговой ткани (ген *DARS2*), у 2 мальчиков — X-сцепленный синдром Барта (ген *TAZ*), по одному ребёнку страдали синдромом Альперса (ген *POLG1*) и митохондриальной энцефаломиопатией с резкой задержкой физического развития (ген *NDUFB9*).

Показано разнообразие фенотипов митохондриальной патологии.

Наследственные заболевания нервной системы в Якутии

Николаева И.А.^{1,2}, Сухомясова А.Л.^{1,2}, Гуринова Е.Е.^{1,2}, Коротов М.Н.², Максимова Н.Р.², Ноговицына А.Н.^{1,2}

¹ ГБУ РС(Я) РБ№1 — НЦМ, г.Якутск, Сергеляхское ш., 4, *genetika@mail.ru*

² ФГУ ЯНЦ КМП ФАНО, г.Якутск

Среди наследственных заболеваний в Якутии ведущее место занимают болезни нервной системы. В МГК были консультированы 970 больных с 29 формами, преимущественно из якутских семей. Молекулярно-генетическая, биохимическая диагностика отдельных форм осуществлялась в лаборатории медико-генетической консультации.

Наиболее широкий спектр различных нозологических форм представлен в группе нервно-мышечных заболеваний. Группа мышечных дистрофий представлена: миотонической дистрофией (197 больных), миотонией Томсена (16 больных), окулофарингеальной миодистрофией (79 больных). Миодистрофия Дюшенна была диагностирована у 30 больных, у одной больной миодистрофия Беккера. Миодистрофия Эмери—Дрейфуса диагностирована у 2 больных, различные формы конечностно-поясной миодистрофии выявлены у шести больных. Мышечная дистрофия врождённая мерозин-негативная подтверждена у одной больной. Консультированы с болезнью Рефсума — 2, с миоплегией гипокалиемической — 4 больных. X-сцепленное рецессивное наследственное заболевание — болезнь Кеннеди — выявлена у пяти больных. Диагноз спинальной амиотрофии Верднига—Гоффмана ставился восьми больным, в настоящее время наблюдаются трое. Один ребёнок наблюдается со спинальной амиотрофией Кугельбера—Веландера.

Диагноз *моторно-сенсорная невропатия* выставлен 128 больным. Среди консультированных наблюдается аутосомно-доминантный и аутосомно-рецессивный типы наследования с вариабельностью возраста начала заболевания.

Из группы наследственных атаксий наиболее распространена спиноцеребеллярная атаксия I типа (271 больных).

С атаксией Фридрейха наблюдаются 13 больных, с денторубро-паллидолюисовой атрофией — 3 больных.

В группе факоматозов — нейрофиброматоз (141 больных), туберозный склероз (15).

Спастическая параплегия представлена 22 случаями. У двух больных диагностирована болезнь Вильсона—Коновалова. С хореей Гентингтона наблюдается 4 больных. С семейной формой болезни двигательного нейрона наблюдается 3 больных. Лейкодистрофия у 9 детей, с синдромом Ретта — 3, с синдромом MELAS — один больной.

Учитывая широкий спектр наследственных заболеваний нервной системы, в том числе тяжёлых форм, необходимо своевременное консультирование в семьях и их профилактика.

Медико-генетическая помощь населению Алтайского края

Никонов А.М.

*КГБУЗ «Диагностический центр Алтайского края», Алтайская межрегиональная медико-генетическая консультация, 656038, г.Барнаул, пр. Комсомольский 75а
NikonovAM@list.ru*

Медико-генетическая помощь населению Алтайского края осуществляется с 1980 г. В настоящее время медико-генетическая консультация состоит из отделения медико-генетической консультации и мониторинга наследственных болезней, лаборатории цитогенетических исследований, лаборатории молекулярно-генетических исследований и отдела пренатальной диагностики и два межрайонных филиала. На сегодняшний день медико-генетическую помощь в крае оказывают 8 врачей-генетиков, 7 врачей лабораторных генетиков, 3 врача акушера-гинеколога и 12 врачей ультразвуковой диагностики.

В течение последнего десятилетия в медико-генетическую консультацию ежегодно обращается около 2500 семей. В 150—170 случаях диагностируются моногенные наследственные заболевания. Хромосомную патологию выявляется в 80—90 случаях. На сегодняшний день актуализированный регистр содержит информацию более чем о 15 000 семьях с наследственными заболеваниями.

Массовое обследование новорождённых (неонатальный скрининг) на наследственные болезни в Алтайском крае началось с 1992 г. с фенилкетонурии и врождённого гипотиреоза. С середины 2006 г. в рамках национального проекта «Здоровье» внедрены скрининговые программы на адреногенитальный синдром, муковисцидоз и галактоземию.

За время проведения мониторинга с 1999 г. получены базовые частоты врождённых пороков развития подлежащих обязательной регистрации. На сегодняшний день в регистре имеется информация о 4875 случаях врождённых пороков развития.

Пренатальная диагностика в Алтайском крае осуществляется с 1991 г., а с 2011 г. уже в рамках специальной федеральной программы.

Таким образом, как видно из представленных данных населению Алтайского края доступны и выполняются в полном объёме все виды медико-генетической помощи. Создание филиалов медико-генетической консультации предоставило возможность осуществлять программу пренатальной диагностики согласно требованиям. Дальнейшее развитие сети филиалов позволит внедрять методы медицинской и клинической генетики в более короткий срок.

Диагностический алгоритм по выявлению частых и редких типов химерного транскрипта BCR-ABL при хроническом миелолейкозе

Никулина О.В., Цаур Г.А., Ригер Т.О., Яковлева Ю.А., Демина А.С., Савельев Л.И., Фечина Л.Г.

*ГБУЗ СО Областная детская клиническая больница №1, 620149 Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32
ГАОУ СО Институт медицинских клеточных технологий, 620149 Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22а
NikulinaOV@inbox.ru*

Диагностика хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ) основывается на обнаружении транслокации t(9;22)(q34;q11) цитогенетическим методом и/или выявлении химерного транскрипта BCR-ABL методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). В ряде случаев диагноз ХМЛ может быть установлен без стандартного цитогенетического исследования, только по данным ОТ-ПЦР, поэтому мы посчитали важным создать диагностический алгоритм, который позволял бы выявлять практический любой тип транскрипта BCR-ABL. Более того, выявление различных вариантов химерного транскрипта является важной задачей, так как от строения химерного гена BCR-ABL может зависеть клиническое течение и эффективность проводимой терапии ингибиторами тирозинкиназ. Чаще всего у пациентов с ХМЛ проводят определение двух наиболее распространённых вариантов химерного транскрипта — e13a2 (b2a2) и e14a2 (b3a2). Однако если у пациента точка разрыва локализуется в нетипичном месте, это может привести к ложноотрицательному результату ОТ-ПЦР и, как следствие, некорректному диагнозу.

За период с 2004 по 2013 гг. было проанализировано 1082 первичных образца от пациентов с верифицированным диагнозом ХМЛ. На основании полученных данных был разработан диагностический алгоритм выявления частых и редких типов химерного гена с использованием метода ОТ-ПЦР.

Используя данный алгоритм, мы выявили частые варианты BCR-ABL — e13a2 и e14a2 в 35,9% и 62,5% случаев соответственно. На долю редких вариантов — e13a3, e14a3, e19a2, e1a2, e3a2, e6a2, e8a2 — суммарно пришлось 1,6% случаев.

Таким образом, предложенный диагностический алгоритм позволяет выявлять частые и редкие типы химерного транскрипта BCR-ABL у пациентов с ХМЛ, что даёт возможность повысить частоту выявления редких вариантов и уже на начальном этапе оценивать прогноз заболевания и проводить адекватный мониторинг терапии ингибиторами тирозинкиназ.

Роль современной генетики в ранней диагностике и лечении наследственных болезней у детей

Новиков П.В.

*ОСП Научно-исследовательский клинический институт педиатрии ФГБУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова
Москва, ул. Талдомская, 2
pnovikov@pedklin.ru*

Большинство наследственных болезней (НБ) манифестирует в детском возрасте — сроки манифестации моногенных болезней в онтогенезе в периоде новорождённости составляют 25%, в возрасте 1—3 года — 70%, к пубертатному периоду — 90%. В связи с этим знание клинических проявлений наследственной патологии и методов её диагностики приобретает особое значение для педиатрии и клинической генетики. До сих пор диагностика НБ остается неудовлетворительной. По данным генетической клиники за последние 10 лет трансформация диагнозов более 5000 больных, поступивших в клинику, наблюдалась у 58,2%. Наибольшие трудности при диагностике представляют пациенты с недифференцированными формами задержки нервно-психического развития. За 2012—2013 гг. среди госпитализированных детей (1350 детей) 86,7% составляли именно дети с умственной отсталостью, задержкой психоречевого и психомоторного развития, генетически обусловленными синдромами и наследственными болезнями обмена веществ.

Идентификация НБ возросла за счёт внедрения молекулярно-цитогенетических методов (FISH-метод, MCB, CGH или агау CGH и др.) и выявления геномных и (хромосомных мик-

роаномалий; использования методов молекулярно-генетического анализа (ГФА, связанную с недостаточностью ВН4 — кофактора ФАГ) и др. Корректный диагноз позволил оптимизировать тактику лечения и повысить эффективность медико-генетического консультирования

Широкое использование современных методов аналитической биохимии (тандемная масс-спектрометрия, ВЖЭХ, газовая хроматография и др.) дало возможность выявления нарушений обмена аминокислот, органических ацидурий, дефектов бета-окисления жирных кислот и др.

Внедрение современных диагностических технологий позволило верифицировать этиологию генетических аномалий у 70% детей и выделять новые нозологии из недифференцированных (идиопатических) форм задержки нервно-психического и физического развития у детей.

Генетическое консультирование, профилактика ЗМ-синдрома в Республике Саха (Якутия)

**Ноговицына А.Н.^{1,2}, Максимова Н.Р.^{1,3},
Сухомясова А.Л.^{1,2}, Гуринова Е.Е.^{1,2}, Степанова С.К.^{1,2},
Захарова В.А.^{1,2}, Готовцева Л.В.^{1,2}**

¹ ФГУ Якутский научный центр КМП ФАНО, Якутск, nogovan@yandex.ru

² ГБУ РС(Я) «Республиканская больница №1 — Национальный центр медицины», Якутск

³ Северо-Восточный Федеральный университет им. М.К. Аммосова, Якутск

Синдром ЗМ (MIM 273750) — редкое аутосомно-рецессивное заболевание, названное по первым буквам фамилий трёх авторов (Miller, McKusick, Malvaux), описавших синдром в 1975 г. Ген *CUL7* (Куллин), вызывающий ЗМ-синдром, картирован и идентифицирован в 2005 г. группой учёных из нескольких стран мира. В период с 2004 по 2006 г. проведены генетическое картирование гена, идентификация мутации у больных якутской национальности — выявлена новая нонсенс-мутация 458insT в 25-кодирующем экзоне гена Куллин 7 (*CUL7*). Разработан способ ДНК-диагностики, получен патент на изобретение РФ №2315310. Частота ЗМ-синдрома составляет 1 случай на 8600 якутов, выявляется 3–4 случая в год. С 2006 г. в практику введено медико-генетическое консультирование семей с ЗМ-синдромом, с 2008 г. — инвазивная дородовая диагностика с проведением ДНК-диагностики. С 2009 г. по 2014 г. 9 семей приняли решение о прерывании беременностей после диагностики ЗМ-синдрома у плода, наблюдался 1 случай мертворождения, умерли в младенческом возрасте 2 детей, родились живыми 12 детей с ЗМ-синдромом.

Беременная 1982 г.р. после ЭКО обратилась в МГК в связи с увеличением толщины воротникового пространства при УЗИ на сроке 13 нед. В анамнезе — самопроизвольный выкидыш двойней, 2 внематочные беременности; со стороны супруга — полусибс по матери с ЗМ-синдромом. ДНК-тестирование подтвердило гетерозиготность по ЗМ-синдрому обоих супругов. От дородовой диагностики отказалась. УЗИ в динамике подтвердил ЗМ-синдром у плодов. Беременность закончилась рождением мальчиков-близнецов с ЗМ-синдромом.

У другой беременной 1980 г.р. по решению семьи были прерваны 3 беременности с плодами гомозиготами по ЗМ-синдрому. Дородовая диагностика 4-го плода также выявила ЗМ-синдром, супруги решили пролонгировать беременность, родился ребёнок с ЗМ-синдромом.

Опыт консультирования показал, что семьи хорошо идут на контакт с врачом-генетиком, соглашаются на инвазивные процедуры, самостоятельно принимают решения по пролонгированию или прерыванию беременности. Рекомендуется семьям коренной национальности, планирующим ЭКО, проходить тестирование на ЗМ-синдром и другие частые рецессивные наследственные болезни; создать донорский банк мужских гамет

после тестирования индивидов на частые наследственные болезни.

Генетические факторы и осложнения атеросклероза у больных, перенесших острый коронарный синдром

Носиков В.В.¹, Затеищikov Д.А.²

¹ Институт биохимической физики РАН им. Н.М. Эмануэля, Москва, ул. Косыгина, д. 4
valery_nosikov@mail.ru

² ГБУЗ «Городская клиническая больница №51», Москва, ул. Алябьева, д. 7/33. dz@bk.ru

Цель исследования: изучение ассоциации полиморфных маркёров ряда генов-кандидатов, продукты которых кодируют компоненты систем гемостаза (*FGB, PROC*), липидного обмена (*APOE, APOB, LPL, HMGCR, FDFTI*) и воспалительной системы (*IL6, IL10, LTA, TNF*) с осложнениями атеросклероза у больных с острым коронарным синдромом.

В 11 центрах (Москва, Казань, Ростов-на-Дону, Санкт-Петербург, Челябинск, Пермь, Ставрополь) обследовано 1145 больных с острым коронарным синдромом: 722 (63%) мужчины и 423 (37%) женщины. Статистическая обработка проводилась с использованием стандартного статистического пакета программы SPSS 16.0.

Максимальный срок наблюдения — 62,5 мес. В течение периода наблюдения у 541 больного зарегистрированы конечные точки. Распределение частот генотипов полиморфных маркёров всех генов в целом по группе не отличалось от частот в европейской популяции. Проведённый анализ выживаемости пациентов показал, что риск развития осложнений атеросклероза после перенесённого острого коронарного синдрома зависит только от генотипов полиморфных маркёров C1654T гена *PROC* и G(-308)A гена *TNF*. В случае полиморфного маркёра C1654T гена *PROC* было обнаружено, что у носителей аллеля T за период наблюдения время дожития до конечной точки составило 42,50 против 47,73 мес. у носителей генотипа CC ($\chi^2 = 7,058$, $p = 0,008$). В случае полиморфного маркёра G(-308)A гена *TNF* было обнаружено, что у носителей генотипов GA и AA по сравнению с носителями генотипа GG чаще наблюдались неблагоприятный исход. Время дожития до конечной точки у носителей генотипов GA и AA составило 43,30 мес. против 49,6 мес. у носителей генотипа GG ($\chi^2 = 15,4$; $p < 0,001$).

Таким образом, полиморфные маркёры C1654T гена *PROC* и G(-308)A гена *TNF*, по-видимому, ассоциированы с течением ИБС в группе больных, перенесших эпизод обострения, что указывает возможно на направления для разработки медикаментозных вмешательств.

Анализ генов предрасположенности к язвенной болезни в Республике Башкортостан

**Нургалеева А.Х.¹, Шаймарданова Э.Х.¹,
Прокофьева Д.С.¹, Габбасова Л.В.³, Курамшина О.А.³,
Крюкова А.Я.³, Хидиятова И.М.^{1,2}, Саитов Р.Б.⁴,
Исмаилова Ю.М.⁴, Шарафутдинов Р.Р.⁴,
Файзуллин Р.Р.⁴, Хуснутдинова Э.К.^{1,2}**

¹ Башкирский Государственный Университет,
[e-mail: alfiyakh83@gmail.com](mailto:alfiyakh83@gmail.com)

² Институт биохимии и генетики, Уфимский научный центр РАН

³ Башкирский Государственный медицинский университет

⁴ Больница скорой медицинской помощи №22, г.Уфа

Язвенная болезнь (ЯБ) — это хроническое заболевание, в основе которого лежит рецидивирующая язва желудка или двенадцатиперстной кишки (ДПК). Одной из вероятных причин возникновения язвенного поражения слизистой оболочки

желудка или ДПК считают инфицирование бактерией *Helicobacter pylori*, однако ульцерогенность её зависит от большого количества эндогенных и экзогенных факторов риска. Целью данной работы было изучение ассоциации с ЯБ полиморфных вариантов генов цитокинов: *IL1B* (rs1143634, rs16944), *IL1RA* (rs71941886), *IL8* (rs4073, rs2227307), *IL10* (rs1800872) и *TNFA* (rs1800629), генов матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов: *MMP1* (rs2276109, rs494379), *MMP2* (rs2285053), *MMP3* (rs3025053), *MMP9* (rs3918242, rs17576), *MMP12* (rs2276109), *TIMP2* (rs8179090) и *TIMP3* (rs9619311). Материалом для исследования послужили образцы ДНК 353 пациентов с язвенной болезнью, 114 из которых были заражены *H.pylori*, и 285 здоровых индивидов. Генотипирование проводилось с помощью методов ПЦР-ПДРФ и ПЦР в режиме реального времени. Обнаружены ассоциации аллеля С и генотипа С/С полиморфного варианта rs1143634 гена *IL1B* с риском развития ЯБ у представителей этнической группы башкир ($p = 0,006$; $OR = 2,87$ и $p = 0,002$; $OR = 4,49$ соответственно), с риском развития ЯБДПК ($p = 0,01$; $OR = 1,46$ и $p = 0,009$; $OR = 1,64$ соответственно). Кроме того, было показано, что генотипы rs494379*A/G гена *MMP1* и rs17576*A/G гена *MMP9* являются маркерами повышенного риска развития ЯБ для татар ($p = 0,001$; $OR = 2,37$ и $p = 0,003$; $OR = 2,19$ соответственно) и для пациентов с хеликобактериозом ($p = 0,007$; $OR = 2,29$ и $p = 0,009$; $OR = 2,23$ соответственно). Выявлено, что гомозиготный генотип А/А полиморфного варианта rs4073 гена *IL8* и генотип 5А/6А полиморфного локуса rs3025053 гена *MMP3* достоверно чаще встречаются среди индивидов контрольной группы, чем среди пациентов с инфекцией *H.pylori* ($p = 0,02$; $OR = 0,46$ и $p = 0,03$; $OR = 0,43$ соответственно).

Диагностическая значимость перестройки гена *C-MYC*

Нурписова Д.З., Булегенова М.Г.,
Каражанова М.К., Жолбаева К.Д.

Научный центр педиатрии и детской хирургии МЗ РК,
г.Алматы

Лимфома Беркитта — гетерогенная группа высокоагрессивных В-клеточных лимфосарком с типичными хромосомными аномалиями t(8;14)(q24;q32), t(2;8)(p12;q24) или t(8;22)(q24;q11), различающихся по клиническим проявлениям и морфологической картине.

Ранее, при применении для лечения лимфомы Беркитта стандартных схем терапии ОЛЛ, заболевание характеризовалось наилучшим прогнозом. Применение коротких интенсивных схем полихимиотерапии («блоковая терапия») в корне изменило ситуацию. В настоящее время 6-летняя бессобытийная выживаемость у детей составляет 78—100%.

Установление диагноза лимфомы Беркитта нередко представляет большие трудности. Только выявление цитогенетического маркера лимфомы Беркитта — перестройки локуса гена *C-MYC* и транслокации t(8;14)(q24;q32) или её вариантов t(2;8)(p12;q24), t(8;22)(q24;q11) позволяет диагностировать лимфому Беркитта. Перестройки гена *C-MYC* выявляется в 100% случаев ЛБ и является одним из главных диагностических критериев этого заболевания. В настоящее время наиболее эффективным методом выявления t(8;14) на этапе диагностики является метод FISH в сочетании с цитогенетическим исследованием.

Целью данной работы было комплексное обследование пациентов для уточнения варианта лейкоза и выбора оптимальной терапии. За период 2013—2014 гг. по сегодняшний день было обследовано 23 пациента, находящихся на лечении в Научном центре педиатрии и детской хирургии г.Алматы, с предварительным диагнозом — *острый лимфобластный лейкоз, Лимфома Беркитта?* Пациентам было проведено цитогенетическое исследование костного мозга, дополненное методом FISH. В исследование вошли 11 девочек и 12 мальчиков

в возрасте от 2 до 14 лет (медиана 7 лет). При кариотипировании у семи пациентов была выявлена транслокация t(8;14)(q24;q32). При проведении FISH-исследования у всех пациентов ген *C-MYC* был перестроен. Необходимо отметить, что не всегда морфология и иммунофенотипирование костного мозга могут однозначно установить диагноз лимфомы Беркитта, поскольку поддерживающая терапия, полученная до поступления в стационар, может повлиять на получение неадекватных результатов, как в случае с одним из наших пациентов. Поэтому FISH-метод признан золотым стандартом диагностики лимфомы Беркитта и входит в протокол диагностики для выведения пациентов в отдельную группу «блоковой терапии». После результатов цитогенетического и молекулярно-генетического исследования выставлен клинический диагноз — ОЛЛ, FAB L3, т.е. лимфома Беркитта, что позволило определить курс лечения, проведение которого стабилизировало состояние пациентов. На данный момент 6 пациентов находятся в стадии стойкой ремиссии, у одного пациента — летальный исход, обусловленный отказом от лечения.

«Single-», «double-» и «triple-hit» лимфомы

Обухова Т.Н., Гребёнюк Л.А., Барях Е.А., Алимова Г.А.,
Клеина И.В., Шишугина Л.А., Савченко В.Г.

ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава РФ,
125167, Москва, Новый Зыковский пр-д, 4
obukhova_t@mail.ru

Транслокации локуса гена *C-MYC/8q24* являются цитогенетическими маркерами лимфомы Беркитта (ЛБ), но могут выявляться в редких случаях других В-клеточных лимфатических опухолей в качестве вторичного хромосомного нарушения. «Double-hit» лимфомы характеризуются сочетанием транслокаций *C-MYC* с другими транслокациями в повторяющихся точках разрывов, такими, как *BCL2/18q21*, *BCL6/3q27* и *CCND1/11q13*; «triple-hit» — *C-MYC*, *BCL2* и *BCL6*. При «single-hit» транслокации *C-MYC* в качестве вторичного хромосомного нарушения выявляются у больных В-клеточными лимфомами, не являющимися лимфомой Беркитта и не имеющими диагностического цитогенетического маркера. За 13-летний период в лаборатории кариологии ГНЦ «double-hit» выявлены у 16 пациентов, 10 женщин и 6 мужчин, средний возраст 59 лет (37—79); ДВККЛ — 7, неклассифицируемая В-клеточная лимфома, занимающая промежуточное положение между ДВККЛ и ЛБ — 5, ФЛ — 1, В-ОЛЛ — 1, множественная миелома — 1, ЛКМЗ — 1. В 10 случаях транслокация *C-MYC* сочеталась с *BCL2*, в четырёх — с *BCL6*, в двух — с *CCND1*. «Triple-hit» выявлен у одного пациента 39 лет с В-лимфобластной лимфомой. Активация протоонкогена *C-MYC* во всех случаях определяла клинико-морфологические черты ЛБ: Ki-67—100% (за исключением 1 пациента ЛКМЗ — ~40%), быструю прогрессию заболевания, высокий уровень ЛДГ, экстраординарные очаги поражения; в 10 случаях морфологическая и иммунологическая картина соответствовала ЛБ. В отличие от ЛБ отмечались: комплексные изменения кариотипа, транслокации *C-MYC* с не-Ig хромосомными партнерами (7 случаев), преобладание женщин, средний возраст 59 лет (в 2 раза выше, чем при ЛБ) и высокая летальность. Все пациенты погибли в течение первого года наблюдения за исключением трёх больных, которым была проведена ПХТ по протоколу ЛБ-М-04 в комбинации с ритуксимабом с последующей ауто-ТСКК (2 года ремиссии заболевания). Диагностика «double-» и «triple-hit» лимфом возможна только на основании цитогенетического исследования. Опыт, накопленный в ГНЦ, позволяет нам дифференцировать ЛБ и «single-hit»-лимфомы — вторичные транслокации *C-MYC* у больных В-клеточными лимфомами без цитогенетического маркера — хроническим лимфолейкозом, пролимфоцитарным лейкозом, лимфомой маргинальной зоны, диффузной В-крупноклеточ-

ной лимфомой — для выбора адекватной терапевтической тактики.

О различиях в частотах аллелей полиморфизма -153 С/Т ММР-7 среди женщин с преэклампсией и контрольной группой

Овчарова В.С., Собянин Ф.И., Должиков А.А.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Россия, 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85
ovcharova@bsu.edu.ru

Преэклампсия — это патологическое состояние, которое осложняет течение беременности и характеризуется нарушением нервной, сосудистой, иммунной, эндокринной систем и системы гемостаза. При возникновении преэклампсии повышается сопротивление децидуальной оболочки, что способствует угнетению процессов инвазии цитотрофобласта и лизиса эластомышечных компонентов стенок спиральных артерий. Происходит снижение уровня экспрессии матриксных металлопротеиназ (ММР-1, -2, -3, -7 и -9), играющих важную роль в процессах протеолиза компонентов экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ).

Целью данной работы было изучение полиморфизма матриксной металлопротеиназы-7 (-153 С/Т ММР-7) у женщин с ПЭ и в контрольной группе.

Материалом для исследования послужили 842 образца ДНК (283 женщин с ПЭ и 559 женщин контрольной группы). Анализ полиморфизма -153 С/Т ММР-7 проводили методом полимеразной цепной реакции с использованием стандартных олигонуклеотидных праймеров, с последующим генотипированием.

Частоты аллелей по локусу -153 С/Т ММР-7 распределились следующим образом: у женщин с ПЭ -153С — 53,71%, -153Т — 46,29%; в контрольной группе: -153С — 49,19%, -153Т — 50,8%. Частота гомозигот -153СС у женщин с ПЭ составила 37,81%, гетерозигот -153СТ — 31,80%, гомозигот -153ТТ — 30,39%. У женщин с физиологическим течением беременности частота гомозигот -153СС составила 29,52%, гетерозигот -153СТ — 39,36%, гомозигот -153ТТ — 31,12%. При сравнительном анализе частот аллелей и генотипов беременных с преэклампсией и беременных без преэклампсии статистически достоверных отличий выявлено не было ($p > 0,05$).

Работа выполнена при поддержке государственного задания Министерства образования и науки РФ «Изучение генетических факторов риска развития мультифакториальных заболеваний человека» (№511/2014).

Мутационный анализ генов PTPN11 и SOS1 у белорусских пациентов с фенотипом синдромов Нунан/LEOPARD

Осадчук Т.В., Румянцева Н.В., Зобикова О.Л.

Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя», Минск, Республика Беларусь, 220053, ул. Орловская, 66
t.asadchuk@gmail.com

Синдромы Нунан и LEOPARD — генетически гетерогенные заболевания с аутосомно-доминантным типом наследования, имеющие сходные клинические проявления, ассоциированы с gain-of-function мутациями в различных генах, кодирующих белки RAS/MAPK сигнального пути, главным образом в PTPN11, SOS1 и RAF1.

Характерными чертами синдрома Нунан являются низкорослость, задержка полового развития, лицевые дисморфии, врожденные пороки сердца. Также могут наблюдаться нарушения интеллекта, деформация грудной клетки, сколиоз, лимфедема, гипогенитализм. Синдром LEOPARD характеризуется

множественными пигментными пятнами (лентиго), лицевыми дисморфиями, пороками сердца, тугоухостью/глухотой. Примерно 80% пациентов с синдромом LEOPARD и около 50% пациентов с синдромом Нунан имеют миссенс-мутации в гене PTPN11. Поэтому 8 белорусских пациентов — 6 пациентов с клиническими проявлениями синдрома Нунан (2 семейных случая передачи заболевания от матери дочери, 2 спорадических случая) и 2 пациента с симптоматикой синдрома LEOPARD (семейный случай с трансмиссией от отца к дочери) были обследованы на наличие мутаций в гене PTPN11. Все пациенты имели характерные лицевые дисморфии и порок сердца.

Для исследования использовалась геномная ДНК, выделенная из лейкоцитов. Мутационный анализ 15 экзонов и фланкирующих интронов гена PTPN11 проводили методом прямого и обратного ресеквенирования на генетическом анализаторе ABI3500xl.

У 7 из 8 пациентов (4 пробанда и 3 доступных для обследования родственника) были идентифицированы 4 различных миссенс-мутации в гене PTPN11: Asn58Lys (новый генетический вариант с.174C>A), Asp61Gly, Asn308Asp, Thr468Met, которые расположены в экзоне 3, кодирующем N-SH2 домен, а также в экзонах 8 и 12, кодирующих РТР домен. У 1 из 8 пациентов мутация в гене PTPN11 не обнаружена. Поэтому было проведено секвенирование всех экзонов второго по частоте встречаемости мутаций гена SOS1. В 6-м экзоне была идентифицирована новая мутация с.797_798delCAinsAAGTA в гетерозиготном состоянии.

Особенности молекулярно-генетической диагностики недостаточности 21-гидроксилазы

Осиновская Н.С.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург

Врожденная дисфункция коры надпочечников (ВДКН) — группа аутосомно-рецессивных заболеваний, обусловленных нарушением секреции кортикостероидов вследствие врожденного дефекта ферментов, ответственных за биосинтез этих гормонов. Частота ВДКН варьирует от 1:27 до 1 : 42 000 чел. в зависимости от популяции. В 95% случаев ВДКН связана с недостаточностью 21-гидроксилазы вследствие мутаций в гене CYP21A2. Гены CYP21A2 и его нефункциональная копия CYP21A1P являются частью RP-C4-CYP21-TNX модуля и картированы в пределах локуса HLA (6p21.3). Тандемная организация высокоомологичных генов предрасполагает к частым рекомбинациям между ними. Большинство мутаций, выявляемых при ВДКН, является результатом рекомбинаций между генами CYP21A2 и CYP21A1P. Точечные мутации, являющиеся результатом микроконверсий и составляют около 75—80% от всех мутаций, а большие генные перестройки — 20—25%. Редкие мутации, не являющиеся результатом генных конверсий, идентифицируются в 5—10% случаев.

В 2014 г. нами проанализировано 530 пациентов, из которых только 15 уже имели диагноз ВДКН. Остальные 515 были женщины с бесплодием, невынашиванием беременности или с аменореей. Мутации в гене CYP21A2 идентифицированы у 81 пациента (15%), в том числе у 65 женщин без диагноза ВДКН (13%). Таким образом, каждая восьмая женщина является носителем мутаций в гене 21-гидроксилазы. Большинство мутаций (90%) выявлены в гетерозиготном состоянии. Недостаточность 21-гидроксилазы характеризуется выраженным генетическим и клиническим полиморфизмом. Тяжесть течения ВДКН обычно коррелирует с «тяжестью» мутационных повреждений. Однако клинические проявления одних и тех же мутаций могут существенно варьировать. Мягкая неклассическая форма (НФ) ВДКН у женщин — гетерозиготных носительниц мутаций гена CYP21A2, по-видимому, может быть обу-

словлена модифицирующим влиянием других генов. Особенностью генетического тестирования при ВДКН является возможность наличия в одном образце нескольких мутаций, которые возникают вследствие генной конверсии. По нашему опыту, обязательным условием точности генетического анализа ВДКН является наличие образцов ДНК родителей пробанда. Массовый скрининг новорождённых позволяет диагностировать ВДКН в неонатальном периоде, и с помощью адекватного лечения предотвратить развитие таких серьезных осложнений, как сольтерияющий криз и связанные с ним летальные исходы, преждевременное половое созревания и бесплодие.

Семейный случай частичной трисомии хромосомы 13 и частичной моносомии хромосомы 18

**Осипова Е.В., Мошкова М.Ю.,
Бухарина И.К., Непряхина М.В.**

*БУЗ УР «Первая Республиканская Клиническая Больница МЗ УР»,
медико-генетическая консультация, г.Ижевск
e-mail: zvmgk@rkb1.udm.ru*

Пробанд — 1 ребёнок у родителей. Ребёнок от 2-й беременности. Первая беременность (2009 г.) закончилась самопроизвольным выкидышем в 8—9 нед. беременности.

Вторая беременность протекала с УПБ в 24—26 нед. На скрининге 1 триместра в 11 нед. 5 дней выявлен высокий индивидуальный риск по трисомии 21 (1:42) и 18 (1:100) хромосомам, при этом сывороточные маркёры были в пределах нормы PAPP-A 0,852МоМ, β ХГЧ 0,964МоМ, но были выявлены маркёры хромосомных аномалий по УЗИ: расширение ТВП до 6,0 мм. От пренатального кариотипирования в 11—12 нед. семья отказалась, супруги решили сохранять беременность. По УЗИ в 15—16 нед. шейная складка 10 мм (от инвазивных исследований семья вновь отказалась). По УЗИ в 21—22 нед. выявлен гиперэхогенный кишечник, в 25—26 нед. «гольф» в левом желудочке сердца плода. В 30—31 неделю — угроза преждевременных родов.

Во время беременности: матери было 24 года, отцу 29 лет, практически здоровы.

Беременность закончилась родами в 36 недель вследствие раннего отхождения околоплодных вод. Родился мальчик весом 3860 г, ростом 56 см. Осмотр ребёнка в роддоме на 4 день жизни: гидроцефалия, маленькие глазные щели, монголоидный разрез глаз, короткий вздёрнутый нос, длинный фильтр, маленькие деформированные низкорасположенные ушные раковины, короткая шея, постаксиальная костная полидактилия и клинодактилия V пальцев на обеих кистях, сандалевидная щель на обеих стопах, гипоплазия полового члена, 2-сторонняя паховая грыжа. При обследовании в роддоме у ребёнка выявлены: ВПС (ДМЖП, ОАП, ООО НК₁) и частичная агенезия мозлистого тела.

В результате цитогенетического исследования обнаружена аномалия кариотипа ребёнка 46,XY,der(18)t(18q;?). Определить сразу, участок какой хромосомы находится на q-плече хромосомы 18, не удалось. При обследовании родителей: кариотип отца — 46,XY, A у матери обнаружена сбалансированная аутомсомная транслокация — 46,XX,t(13;18)(q22;q21.3) (13pter→13q22::18q21.3→18qter;18pter→18q21.3::13q22→13qter). У ребёнка: частичная трисомия хромосомы 13 по сегменту 13q22→qter и частичная моносомия хромосомы 18 по сегменту 18q21.3→qter и соответствующая клиника, в то время как мать, являясь носителем сбалансированной транслокации, фенотипически и клинически здорова.

При обследовании семьи матери пробанда выявлена такая же перестройка у её матери, в анамнезе у которой был один выкидыш и родилось двое детей: дочь-носительница хромосомной абберации и сын с кариотипом 46,XY. Семье рекомендовано пренатальное кариотипирование плода при каждой последующей беременности.

Торсионная дистония I типа у взрослых больных Московской области

**Остапчук К.А.¹, Котов С.В.¹, Сидорова О.П.¹,
Поляков А.В.², Галеева Н.М.², Мисиков В.К.¹**

*¹ ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского,
konstantin302@yandex.ru*

² ФГБНУ МГНЦ

Цель — определить межсемейный полиморфизм среди больных дистонией первого типа в Московской области.

Проведено молекулярно-генетическое обследование у 21 взрослого пациента с дистонией в Московской области. Молекулярно-генетическое исследование проводилось в медико-генетический научный центр РАМН для выявления мутации в гене *DYT1* с использованием метода секвенирования.

Среди 21 больного у 16 была выявлена только цервикальная дистония. У этих больных не выявлено мутации в гене *DYT1*. Среди оставшихся 5 больных с торсионной дистонией с и без цервикальной дистонии в двух случаях обнаружена наиболее часто встречающаяся мутация в гене *DYT1* — делеция трёх нуклеотидов (del1302/303). Следовательно, удельный вес больных с дистонией I типа в этой группе пациентов составил 40% (2 из 5) в популяции Московской области. В клинической картине и начале заболевания у больных с выявленной мутацией были различия, что объясняется межсемейным полиморфизмом. В одном случае у больного 30 лет заболевание началось в возрасте 14 лет. В клинической картине отмечалась торсионная дистония без наличия клинических признаков цервикальной дистонии. Были обследованы также родители больного и делеция в гене *DYT1* выявлена также у отца, не имеющего симптомов заболевания. Второй случай выявленной мутации был у больного 50 лет. Заболевание началось в 46 лет с торсионной дистонии туловища, затем в 48 лет присоединилась цервикальная дистония (левосторонний тортиколлис). Боулинотерапия в количестве двух инъекций (Ботокс, 300ЕД) на настоящее время оказала минимальный эффект (TWSTRS до лечения — 60; после — 59).

Создание биобанка с расширенным молекулярно-генетическим аннотированием образцов ДНК пациентов с муковисцидозом и фенилкетонурией

**Павлов А.Е., Симакова Т.С., Зайцева М.А., Брагин А.Г.,
Внуцкова Ю.А., Шутлов Р.В.**

*ООО «ПАРСЕК ЛАБ» (Санкт-Петербург)
www.parseq.pro, apavlov@parseq.pro*

Одной из характерных тенденций последнего десятилетия в медицине является всё возрастающая роль биобанков в научных исследованиях и разработках. Особое значение биобанки имеют для фундаментальных, трансляционных и клинических исследований редких (орфанных) заболеваний. В Российской Федерации эта сфера представлена мало, доступ к имеющимся биобанкам затруднен, содержимое зачастую плохо систематизировано и аннотировано. При этом очевидно, что наличие подобной инфраструктуры способствует ведению качественных биомедицинских исследований и разработок.

В ходе разработки диагностического решения для выявления мутаций в генах *CFTR*, *PAH* и *GALT* с использованием метода высокопроизводительного геномного секвенирования (NGS), нами был собран уникальный биобанк, который характеризуется следующими отличительными особенностями:

1) биорепозиторий содержит более 120 образцов ДНК пациентов с клиническим диагнозом муковисцидоз и фенилкетонурия, а также 30 образцов условно здоровых людей, у которых данные заболевания не были диагностированы в зрелом возрасте;

2) генотипическая информация представлена в виде списка регионов (формат BED), для которых доступен качественный сиквенс (формат BAM), и списка обнаруженных вариантов (формат VCF). Генетическая информация получена двумя независимыми методами: NGS и секвенированием по Сангеру;

3) в базе содержатся технические сведения и фенотипическая информация об образце. Данные пациента деперсонализированы в соответствии с принципами GCP и биоэтики;

4) база данных имеет графический интерфейс и систему поиска по ряду условий, включая обнаруженные генетические варианты.

Основной целью создания данного биобанка являлась отработка подходов к глубокому аннотированию образцов и представлению комплексных данных. Созданный биобанк может использоваться в ходе исследований и разработок в области молекулярно-генетической диагностики, для верификации биоинформатических алгоритмов и валидации клинических NGS панелей по заболеваниям, ассоциированным с указанными генами. Также коллекция может быть использована в качестве контрольных образцов и материалов для проверки квалификации NGS-лабораторий.

Проблемы формирования биобанков при обследовании изолированных популяций (на примере ясколбинских сибирских татар)

Падюкова А.Д.^{1,2}, Ульянова М.В.¹, Лавряшина М.Б.¹, Балановская Е.В.³

¹ ФГБОУ ВПО Кемеровский государственный университет, Россия, г. Кемерово, ул. Красная, 6

² ГБОУ ВПО Кемеровская государственная медицинская академия Минздрава России, г. Кемерово, ул. Ворошилова 22а

³ ФГБУН Медико-генетический научный центр, Россия, Москва, ул. Москворечье, 1
enikeeva.as@rambler.ru

Анализируется эффективность применённой методики формирования выборки в популяционных изолятах при создании многофункциональных биобанков и предлагается оценка эффективности методики по «генетическим портретам», созданным по SNP и STR маркерам Y-хромосомы — наиболее дифференцированной генетической системы.

Методика рассмотрена на примере изучения изолированной популяции ясколбинских тоболо-иртышских сибирских татар Заболотья. Исторические справки датируют возникновение поселений сибирских татар в данной местности периодом не позднее конца XVII века. Их ареал расселения охватывает обширный болотистый край Тобольского района Тюменской области, отделённый от всех иных популяций р. Иртыш и непроходимыми болотами настолько, что наземный путь доступен только в зимнее время. Географическая изолированность и малая численность (около 2000 чел.) популяций ясколбинцев (называемых также «заболотными татарами») привела к высокому уровню инбридинга.

Сбору образцов ДНК предшествовала кропотливая работа по генетико-демографическому анализу популяции (2012—2015 гг.), включая формирование списков семей по данным книг похозяйственного учёта сельского населения, экспертный опрос (поиск информаторов), составление уточнённых генеалогий с указанием неродственных семей лиц, детальное анкетирование обследуемых. В результате в биобанк включена тщательно собранная коллекция образцов венозной крови, включающая 86 образцов неродственных мужчин из шести сёл заболотных татар (пп. Лайтамак, Топкинская, Вармахли, Ачиры, Ишменево, Изыметь).

В выборку включены только неродственные индивиды, все предки которых на протяжении как минимум трёх поколений

проживали в Заболотье и относили себя к ясколбинским татарам, каждый из обследуемых дал письменное информированное согласие на генетическое обследование. Анализ гаплотипов Y-хромосомы позволяет оценить эффективность отбора неродственных индивидов в инбредной популяции.

Работа поддержана грантами РФФИ 13-06-00670_а, 15-06-10174_к, 14-06-00272_а

Полиморфизмы генов тромбозии и фолатного цикла в группе женщин с привычным невынашиванием

Панкова Е.Е., Голубцов В.И., Лазарев К.Ю.

*Кубанский государственный медицинский университет, 350063, Краснодар, ул. Седина, 4
elena.pankova74@mail.ru*

Привычное невынашивание беременности (ПН) представляет собой одну из важнейших проблем репродуктивного здоровья с частотой в популяциях России 2—5% (Сидельникова В.М., 2005). Среди возможных генетических причин ПН многие исследователи отмечают мутации в системе генов тромбозии и фолатного цикла (Бицадзе В.О., 2004; Макария А.Д. и др., 2005; Акопова К.А., 2010).

Проведён ретроспективный анализ пяти полиморфизмов генов свёртывающей системы крови и четырёх — фолатного цикла. Объектом исследования были 248 женщин русской национальности с ПН проживающие в Туапсинском районе и г. Сочи и Новороссийске Краснодарского края. Средний возраст пациенток составил 33 ± 6 года. ДНК выделяли из размороженной крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Амплификация проводилась методом полимеразной цепной реакции с аллель-специфичными праймерами.

Частоты полиморфизмов генов свёртывающей системы крови и фолатного цикла у женщин с ПН в сравнении с общепопуляционными

Ген	Полиморфизм	Генотип	Абс.	%	Общепопуляционная частота полиморфизмов
FII	с.97G>A	G/A	12	4,84	1—3
		A/A	0	0	0—1
FV	с.1601G>A	G/A	6	2,42	2—7
		A/A	3	1,21	0—1
PAI-1	с.675 4G/5G	4G/5G	57	22,98	20—40
		4G/4G	37	14,92*	5—8
ITGB3	с.176T>C	T/C	34	13,71	8—15
		C/C	0	0	0—1
FGB	с.467G>A	G/A	57	22,98*	10—15
		A/A	9	3,63*	1—2
MTHFR	с.665C>T	CT	94	37,90	30—40
		TT	14	5,65	5—7
		AC	56	22,58	30—55
MTRR	с.1286A>C	CC	8	3,23	3—13
		AG	94	37,90	34—37
MTR	с.66A>G	GG	40	16,13	15—20
		AG	68	27,42	25—30
		GG	10	4,03*	0—1

Обнаружено достоверное повышение частот генотипов 4G/4G PAI-1, G/A и A/A FGB, GG MTR в исследуемой группе женщин по сравнению с общепопуляционными частотами.

Анализ распределения частот -627C>A полиморфного маркера гена *IL10* у здоровых доноров и больных эссенциальной артериальной гипертензией (на примере жителей Карелии)

Панкрашова К.А.¹, Топчиева Л.В.², Малышева И.Е.², Курбатова И.В.², Корнева В.А.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Петрозаводский государственный университет» (ПетрГУ), 185000, г.Петрозаводск, пр. Ленина, 33, e-mail: kiska.loves@mail.ru

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук (ИБ КарНЦ РАН), 185910, г.Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11 e-mail: topchieva67@mail.ru

Проведено исследование распределения частот -627C>G полиморфного варианта гена *IL10* в разных этнических группах Карелии. Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена *IL10* достоверно не отличалось в группах здоровых и больных ЭАГ (I—II стадия) из трёх этнических групп (таблица), что может свидетельствовать об отсутствии связи изученного полиморфного маркера с развитием данного заболевания.

Распределение аллелей и генотипов по полиморфному маркеру -627C>G гена *IL10* в группе людей, страдающих ЭАГ, и в контрольной группе

Национальность	Группы	Аллели		Генотипы			Критерий χ^2	
		С	А	СС	СА	АА	Аллели	Генотипы
Русские	Контроль (n = 172)	0,78	0,22	0,65	0,26	0,09	0,2 (df = 1, p>0,05)	4,96 (df = 2, p>0,05)
	ЭАГ (n = 148)	0,81	0,19	0,64	0,34	0,02		
Вепсы	Контроль (n = 21)	0,79	0,21	0,57	0,43	0,00	0,27 (df = 1, p>0,05)	2,83 (df = 2, p>0,05)
	ЭАГ (n = 23)	0,85	0,15	0,74	0,22	0,04		
Карелы	Контроль (n = 19)	0,74	0,26	0,63	0,21	0,16	0,649 (df = 1, p>0,05)	2,190 (df = 2, p>0,05)
	ЭАГ (n = 16)	0,81	0,19	0,69	0,25	0,06		

Содержание *IL10* в плазме крови здоровых людей и больных ЭАГ достоверно не отличалось ($77,2 \pm 3,54$ пг/мл; $84,99 \pm 2,56$ пг/мл соответственно) ($p = 0,061$). Содержание *IL10* у носителей разных генотипов по -627C>A достоверно отличалось ($p = 0,016$). У доноров, гомозиготных по аллелю С плазменный уровень *IL10* был выше ($91,77 \pm 15,6$ пг/мл), чем у гетерозигот и гомозигот по аллелю А ($51,9 \pm 4,36$ пг/мл). Эти данные согласуются с данными литературы, согласно которым, повышенный уровень экспрессии гена *IL10* связан с С аллелем (Crawley et al., 1999).

Делеции гена *IKZF1* при В-линейном остром лимфобластном лейкозе у детей, зарегистрированных в исследовании ALL-MB2008

Панфёрова А.В.¹, Казакова А.Н.¹, Матвеева Е.А.¹, Чекменева Ю.Ю.¹, Байдун Л.В.², Быданов О.И.³,

Лагойко С.Н.¹, Румянцева Ю.В.¹,
Ольшанская Ю.В.¹, Карачунский А.И.¹

¹ ФГБУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачёва Минздрава России, Москва, Россия
a.panfyorova@yandex.ru

² ФГБУ Российская детская клиническая больница Минздрава России, Москва, Россия

³ ГУ Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии Министерства здравоохранения Республики Беларусь, Минск, Беларусь

Изменения числа копий генов, ответственных за пролиферацию, дифференцировку и контроль клеточного цикла В-лимфоцитов — *IKZF1*, *PAX5*, *CRLF2*, *ETV6*, *CDKN2A/B* — характерны для ОЛЛ из В-клеток предшественников. В ряде исследований показано, что делеции/мутации в гене *IKZF1* ассоциированы с неблагоприятным прогнозом.

Целью нашего исследования была характеристика и определение частоты встречаемости и прогностического значения делеций гена *IKZF1* при В-линейных ОЛЛ у детей, зарегистрированных в исследовании ALL-MB 2008.

Методом мультиплексной амплификации лигазно-связанных проб с применением коммерческих наборов P335*IKZF1*/P202*IKZF1*SALSA MLPA kit (MCR-Holland, Голландия) был проведён скрининг изменений числа копий гена *IKZF1* в группе из 171 пациента с первично диагностированным *BCR-ABL1* негативным В-ОЛЛ.

Делеции в гене *IKZF1* выявлены у 22 пациентов (12,9%). В четырёх случаях имела место делеция экзонов 4—7, по два случая делеций экзонов 2—7, 4—8 и 1—7, в одном случае имела место делеция всего гена, а остальные случаи представляли редкие варианты делеций. В цитогенетических подгруппах делеции были обнаружены у 3 из 5 пациентов с *iAMP21*, у двух из 66 пациентов с *t(12;21)* в одном случае *IgH/CRLF2*, в трёх случаях из 30 гипердиплоидий, в одном случае моносомии 7. Пациенты с делецией *IKZF1* гена были старше (медиана возраста 6,36 против 4,31 года), соотношение м/д — 2,67. В группу промежуточного риска стратифицированы 14 пациентов, 5 — в группу низкого риска и 3 пациента в группу высокого риска.

Полученные нами данные о частоте встречаемости делеций гена *IKZF1* сравнимы с данными, опубликованными другими исследователями. Однако проанализированная группа пациентов имеет дисбаланс в цитогенетических вариантах (66 случаев с *t(12;21)*). Предварительный анализ выживаемости не выявил влияния статуса гена *IKZF1* на прогноз заболевания, однако, срок наблюдения пока недостаточен.

Анализ кариотипа клеток хориона при неразвивающейся беременности, наступившей естественным путём и с применением вспомогательных репродуктивных технологий

Пендина А.А.^{1,2,3}, Ефимова О.А.^{1,2}, Чиряева О.Г.¹, Тихонов А.В.^{1,2,3}, Петрова Л.И.¹, Дудкина В.С.¹, Садик Н.А.^{1,3}, Федорова И.Д.¹, Галембо И.А.², Кузнецова Т.В.^{1,2}, Гзгзян А.М.¹, Баранов В.С.^{1,2}

¹ ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта»,

199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д.3

² Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9

³ СПбКУЗ «Диагностический центр (медико-генетический)», 194044, Санкт-Петербург, ул.Тобольская, д.5
pendina@mail.ru

Проведён сравнительный анализ частоты и спектра аномалий кариотипа в хорионе при неразвивающейся беременности, наступившей естественным путём и с применением вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Исследование проведено у 499 пациенток двух возрастных групп: до 35 лет и 35 лет и старше. В обеих возрастных группах не выявлено отличий в спектре хромосомных патологий хориона при естественной наступившей беременности и беременности после ВРТ. В группе пациенток до 35 лет, беременность которых наступила с помощью ВРТ, частота аномального кариотипа хориона была достоверно ниже — 37,04%, чем в такой же возрастной группе пациенток, беременность которых наступила естественным путём — 62,43%. У пациенток старшей возрастной группы частота аномального кариотипа хориона не отличалась при беременности, наступившей естественным путём и с помощью ВРТ. Полученные результаты свидетельствуют о том, что ВРТ не повышает риск неразвивающейся беременности, причиной которой является аномальный кариотипа плода. У пациенток в возрасте до 35 лет, беременность которых наступила в результате ВРТ, аномалии кариотипа не являются доминирующей причиной остановки развития таковой. Это подчёркивает важность разработки особого алгоритма диагностики и лечения пациенток, в особенности в возрасте до 35 лет, до вступления в цикл ВРТ для снижения риска потери зуплоидной беременности.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (13-04-01978), Правительства Санкт-Петербурга и стипендии Президента РФ.

Полиморфизм *C677T* гена *MTHFR* и риск формирования несиндромальных орфоциальных расщелин

Петрин А.Н.^{1,2}, Мещерякова Т.И.¹, Маркова С.И.¹, Жилина С.С.^{1,3}, Гончаков Г.В.¹, Гончакова С.Г.¹, Абрамов А.А.¹, Тарлычева Л.В.^{2,4}, Зинченко Р.А.^{3,4}, Мутовин Г.Р.^{1,3}

¹ ФГУЗ «Научно-практический центр медицинской помощи детям ДЗМ»,

119620, Москва, ул. Авиаторов, д. 38

E-mail: a.petrin@mail.ru

² ГБОУ ВПО Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова Минздрава России,

127473, Москва, ул. Десятская, д.20, стр.1

³ ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» МЗРФ, 117997, Москва, ул. Островитянова, д.1

⁴ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1

В настоящее время имеются противоречивые данные относительно роли полиморфизма гена метилентетрагидрофолатредуктазы (*MTHFR*) в формировании риска рождения детей с врожденными расщелинами губы и/или нёба (ВРГН). ВРГН являются одними из самых распространенных врожденных дефектов у детей. Средняя частота несиндромальных ВРГН составляет от 0,41 до 1,2 случаев на 1000 новорожденных по субъектам РФ. В большинстве случаев ВРГН являются мультифакториальными заболеваниями, с разным соотношением доли генетических и внешнесредовых факторов. Целью исследования было изучение влияния полиморфизма *C677T* гена *MTHFR* на риск возникновения несиндромальных ВРГН. Известно, что фермент *MTHFR* играет важную роль в метаболизме фолиевой кислоты. Снижением активности фермента *MTHFR* приводит к развитию умеренной гипергомоцистеинемии. В то же время производные фолиевой кислоты и продукты метаболизма фолатов принимают участие в процессах эмбриогенеза и связаны

с нарушением метилирования ДНК и геномной нестабильностью. Проведено исследование 102 детей с несиндромальными ВРГН. Группа контроля состояла из 57 здоровых детей. Полученные результаты исследования не подтвердили влияния полиморфизма *C677T* гена *MTHFR* на повышение риска формирования несиндромальных ВРГН. В дальнейшем представляет интерес включить в исследование наиболее значимые точковые мутации других генов фолатного цикла, а также увеличить выборку как для больных, так и для здоровых.

Изучение генов *GJB2*, *GJB6* у больных несиндромальной наследственной тугоухостью в четырёх популяциях Карачаево-Черкесской Республики

Петрина Н.Е.¹, Васильева Т.А.¹, Петрова Н.В.¹, Петрин А.Н.^{2,3}, Зинченко Р.А.^{1,4}

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1
e-mail: vila2003@mail.ru

² ФГУЗ «Научно-практический центр медицинской помощи детям ДЗМ»,

Москва, 119620, ул. Авиаторов, д. 38

³ ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» МЗРФ, Москва, 127473, ул. Десятская, д. 20, стр. 1

⁴ ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» МЗРФ, 117997, Москва, ул. Островитянова, д.1.

Наиболее значимыми в этиологии прелингвальной наследственной нейросенсорной несиндромальной тугоухости (НСНС) являются гены коннексинов — *GJB2* и *GJB6*. Выявлено около 200 мутаций гена *GJB2*, ассоциированных с ННС, и описано большое количество полиморфизмов, патогенетическая значимость которых трактуется неоднозначно (<http://www.hgmd.org/>). Проведено медико-генетическое исследование ННС в г.Черкесске, Усть-Джегутинском, Карачаевском и Малокарачаевском районах Карачаево-Черкесской Республики (КЧР). Цель исследования: определение спектра мутаций в кодирующем экзоне гена *GJB2* и двух больших делеций — DEL (*GJB6*-D13S1830) и DEL (*GJB6*-d13S1854) в гене *GJB6*. 98 пациентов с ННС из КЧР проскринировано на наличие мутационных изменений в кодирующем экзоне гена *GJB2* и двух больших делеций — DEL (*GJB6*-D13S1830) и DEL (*GJB6*-D13S1854) в гене *GJB6*. У 26 больных выявлен генотип 35delG/35delG, у семи — гена *GJB2* 35delG/+. Частота мутации 35delG составила 30,10%. Также выявлена мутация 313del14 (1,19%; n = 2) в гене *GJB2*. Также были выявлены 4 варианта SNP — с.79G>A (n = 2), с.341G>A (n = 1), с.186C>T (n = 1) и с.457G>A (n = 1), описанные в литературе как нейтральные полиморфизмы. Патогенетическая роль аллеля с.457G>A носит дискуссионный характер (Matos T.D., 2011). В одном случае полиморфный вариант с.341G>A встретился с SNP с.79G>A, образуя известную по литературе группу сцепления. Других мутационных изменений в гене 35delG, также как и двух делеций в гене *GJB6*, не выявлено. Среди осмотренных 98 больных 16 имели этническую принадлежность — карачаевцы. Только у одного пациента выявлена мутация 35delG в гомозиготном состоянии, составив частоту 6,25%. Учитывая низкую частоту мутаций гена *GJB2* среди больных изученных популяций КЧР, проведён скрининг 140 здоровых карачаевцев (280 хромосом) на носительство мутации 35delG в гене *GJB2*. Выявлена низкая популяционная частота носительства мутации 35delG в гене *GJB2*, составившая 0,357%.

Работа выполнена при частичном финансировании грантов РФФИ 14-04-00525 и 15-04-01859

Клинические особенности острых миелоидных лейкозов с мутациями в гене DNMT3A

Петрова Е.В., Мартынкевич И.С., Полушкина Л.Б., Мартыненко Л.С., Иванова М.П., Цыбакова Н.Ю., Клеина Е.В., Шабанова Е.С., Чететкин А.В., Абдулкадыров К.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии» Федерального медико-биологического агентства, 191024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, 16 kateerina@mail.ru

Изучение гена DNMT3A при ОМЛ обусловлено высокой частотой встречаемости его мутаций и значимостью в развитии данного заболевания. Целью нашего исследования было изучить частоту встречаемости, ассоциацию с клинико-гематологическими особенностями и прогностическую значимость мутаций в гене DNMT3A у больных ОМЛ.

В работе исследовали 143 пациента: с благоприятным (9,8%), неблагоприятным (14,0%), нормальным кариотипами (НК) (49,0%) и другими хромосомными aberrациями (27,2%). Цитогенетическое исследование выполняли на G-дифференциально окрашенных хромосомах, скрининг мутаций DNMT3A R882 проводили методом ПЦР в реальном времени с дальнейшим анализом кривых плавления. Мутации в гене DNMT3A R882 были обнаружены у 23 больных (16,1%) de novo ОМЛ: R882H — у 16, R882C — у шести, R882S — у одного пациента. Медиана возраста больных с мутациями в DNMT3A составила 59 лет (34–86) по сравнению с 54 годами (18–84) у пациентов без мутаций ($p = 0,289$). Мутации в гене DNMT3A детектировались при всех морфологических вариантах (кроме M0 и M3, крайне редко при M2 ($p = 0,006$)) и чаще обнаруживались у больных с вариантами M5 (7/17 больных, $p = 0,003$) и M4 (11/38 пациентов, $p = 0,012$). Мутации в гене DNMT3A не были обнаружены ни у одного больного с благоприятным кариотипом и выявлялись только у 1/20 пациентов с неблагоприятным прогнозом. Достоверно чаще мутации в гене DNMT3A находили у больных с НК — у 17/70 больных (24,3%) ($p = 0,009$). DNMT3A R882 мутации были детектированы в сочетании с мутациями в генах FLT3 (с FLT3-ITD и FLT3-TKD), NRAS, SKIT и NPM1, причём сочетанная встречаемость мутаций с FLT3-ITD и с мутациями в гене NPM1 была статистически значимой ($p = 0,001$ и $p = 0,005$ соответственно). У 6 больных был выявлен генотип DNMT3A+/FLT3-ITD+/NPM1+. У пациентов с DNMT3A R882 был обнаружен высокий уровень лейкоцитов и тромбоцитов в ПК по сравнению с больными без мутации ($p = 0,001$ и $p = 0,020$ соответственно). Мутации в гене DNMT3A ассоциировались с негативным влиянием на выживаемость пациентов и высоким риском развития рецидива заболевания по сравнению с больными без мутации (Me OV и BРВ: 5,2 и 13,0 мес. и 4,8 и 10,0 мес. ($p = 0,031$ и $p = 0,045$ соответственно)).

Детекция мутаций в гене DNMT3A в дебюте заболевания позволяет стратифицировать больных ОМЛ на группы риска.

Расширенная стратегия изучения спектра мутаций в гене CFTR у российских пациентов с муковисцидозом

Петрова Н.В.¹, Васильева Т.А.¹, Тимковская Е.Е.¹, Каширская Н.Ю.¹, Воронкова А.Ю.¹, Шабалова Л.А.¹, Коноратьева Е.И.¹, Шерман В.Д.², Капранов Н.И.¹, Зинченко Р.А.^{1,3}, Гинтер Е.К.^{1,4}

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1 e-mail: timkovskaja@yandex.ru

² ФГУЗ «Детская городская клиническая больница №13 им. Н.Ф.

Филатова Департамента здравоохранения Москвы», 103001, Москва, ул. Садовая-Кудринская, д. 15

³ ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» МЗРФ, 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1

⁴ ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» МЗРФ, 125993, Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1

Муковисцидоз (МВ; OMIM #219700) — частое аутосомно-рецессивное заболевание, обусловленное мутацией в гене CFTR (OMIM *602421). Рутинный анализ 25 частых мутаций в гене CFTR позволяет идентифицировать до 75% мутантных аллелей у российских пациентов с МВ. Для более полного изучения спектра мутаций проведено исследование кодирующей области, экзон-интронных соединений и промоторного региона гена CFTR методом прямого двунаправленного секвенирования с последующим анализом протяжённых перестроек методом MLPA в выборке 70 пациентов с МВ, у которых при рутинном анализе не определены один либо оба мутантных аллеля гена CFTR (всего 82 не идентифицированных аллеля). При секвенировании дополнительно к ранее идентифицированным (11) выявлено 47 различных мутаций с известной или предполагаемой клинической значимостью: 16 миссенс-мутаций, 10 делеций и 2 инсерции со сдвигом рамки, 9 нонсенс, 9 нарушений сплайсинга, 1 мутация индел, 1 инсерция без сдвига рамки. Большинство мутаций (29 из 47) обнаружено однократно. Мутации E92K, S466X(TGA)-R1070Q выявлены у 9 и 5 неродственных пациентов соответственно. Каждая из мутаций 712-1G->T, 2789+5G->A, 1898+1G->C встретилась три раза. Четыре пациента из близкородственных браков были гомозиготны по мутациям c.3084_3088delinsATG, G85E, I506T, G1244E. Выявлены 10 ранее не описанных мутаций: c.3084_3088delinsATG (p.Met1028IlefsX18), c.1262delC (p.Thr421IlefsX21), c.1725delT (p.Phe575LeufsX4), c.264-268delATATT (p.Leu88PhefsX21), c.1219delG (p.Glu407AsnfsX35), c.252T>A (p.Tyr84X), c.3930G>A (p.Trp1310X), c.1083G>A (p.Trp361X), c.1522T>A (p.Phe508Ile), c.1793_1795dupAAA (p.Lys598dup). Из них только мутация c.252T>A (p.Tyr84X) выявлена у двух неродственных пациентов. Метод MLPA позволил выявить в трех семьях обширные перестройки: c.(?_744)_(1584_?)dup, c.(?-1270)_(1584_?)del; c.(?_579)_(1584_?)del; две последние ранее не описаны. В результате идентифицировано 81 из 82 мутантных аллелей. Комплексный анализ: секвенирование кодирующих регионов и MLPA — позволил выявить значительное разнообразие спектра мутаций гена CFTR и ряд повторяющихся мутаций, которые можно включить в панель рутинно анализируемых мутаций у российских пациентов с МВ.

Работа выполнена при частичном финансировании грантов РФФИ 14-04-00525 и 15-04-01859.

Сравнительный анализ профиля экспрессии мкРНК и генов-мишеней ткани мозга крыс при фокальном ишемии и в глутамат-индуцированных культивируемых нейронах гиппокампа

Пинелис В.Г.¹, Гусар В.А.¹, Тимофеева А.В.¹, Жанин И.С.¹, Шрам С.И.²

¹ ФГБНУ «Научный центр здоровья детей», Москва, Россия e-mail: pinelis@mail.ru

² Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия 119991, Россия, Москва, Ломоносовский проспект, 2, стр.1

Известно, что вызванные ишемией, черепно-мозговой травмой и некоторыми нейродегенеративными заболеваниями повреждения нейронов обусловлены развитием каскада механизмов, включая эксайтотоксичность, нарушения ионного гомеостаза и функции митохондрий, окислительный стресс, воспаление. Одним из перспективных направлений в данной об-

ласти исследований является анализ уровня экспрессии микроРНК (миРНК), действующих на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях. Связываясь с мРНК-мишенью, миРНК способна подавлять трансляцию мРНК или вызывать её деградацию, контролируя экспрессию соответствующих генов. В настоящей работе изучены профили экспрессии микроРНК и генов-мишеней при фокальной ишемии мозга крысы и в глутамат-индуцированных культивируемых нейронах гиппокампа. Проведённый анализ уровня экспрессии в экспериментальных группах животных показал дифференциальную экспрессию 38 мкРНК в образцах головного мозга крыс в постинфарктном периоде через 24 ч и 48 ч. Иерархическое кластеризирование выделило ряд кластеров, для которых был характерен определённый паттерн экспрессии мкРНК в биоптатах головного мозга крыс. Сравнение профиля экспрессии мкРНК ишемизированного мозга через 24 ч с образцами мкРНК ложноперивированных животных показало, например, достоверные отличия ($p < 0,05$) для мкРНК *let-7f-5p*, *miR-21-5p*, *miR-27a-5p*. При сравнении профиля экспрессии мкРНК через 48 ч полученные данные об усугублении постинфарктных процессов. Также установлено, что мкРНК, у которых уровень экспрессии достоверно увеличивался только в ишемизированном полушарии по сравнению с контралатеральным «интактным» полушарием, имеют потенциальные участки связывания с мРНК, характерных для генов, участвующих в процессах апоптоза, воспаления, нейрогенеза и нейропротекции. Ту же самую картину мкРНК и их генов-мишеней наблюдали в первичной культуре гиппокампа при гиперстимуляции глутаматных рецепторов.

Случай вариантной транслокации с участием гена *RARA* у пациентки с острым промиелоцитарным лейкозом

Плеханова О.М.¹, Цаур Г.А.^{1,2,3}, Ксензова Т.И.⁴, Нохрина Е.С.¹, Ригер Т.О.^{1,2}, Савельев Л.И.^{1,2,3}, Фечина Л.Г.^{1,2}

¹ Областная детская клиническая больница №1, Екатеринбург, С. Дерябиной, 32

² Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург, К Маркса, 25

³ Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Екатеринбург, Решина, 3

⁴ Тюменская областная клиническая больница, Тюмень, Котовского, 55
283850@gmail.com

Транслокация $t(15;17)(q22;q12)$ является патогномичной для острого промиелоцитарного лейкоза (ОПМЛ). Она выявляется в 95% случаев ОПМЛ. Наряду с этим описаны варианты транслокации с участием гена *RARα*: $t(11;17)(PLZF-RARα)$ — менее 5% случаев, $t(11;17)(NuMa-RARα)$, $t(5;17)(NPM1-RARα)$, $t(5;17)(STAT5b-RARα)$ — в совокупности менее 1% случаев ОПМЛ. Большинство вариантных транслокаций связаны с первичной резистентностью к полностью-транс ретиноевой кислоте (АТРА).

Пациентка, 4 лет, поступила с диагнозом рецидив ОПМЛ. При стандартном цитогенетическом исследовании выявлены трисомия в 8 паре хромосом и дериваты 1, 3, 6, 17 хромосом. При исследовании методом FISH с зондом LSI PML/RARα DC DF Probe (Abbott Molecular, США) в интерфазных ядрах обнаружено по два сигнала гена *PML* и по три сигнала гена *RARα*, что свидетельствует о наличии перестройки гена *RARα* без вовлечения гена *PML*. При анализе метафазных пластинок выявлено, что флуоресцентный сигнал гена *RARα* был локализован на длинных плечах хромосом 1 и 3, наряду с нормальной хромосомой 17. Исследование методом ОТ-ПЦР химерный ген *PML-RARα* не выявлен. Исследование метафазных клеток методом mFISH показало, что blastные клетки имеют кариотип: 47,XX,t(1;6;17;3)(q42;p24;q12;q28),+8. Среди публикаций, по-

свящённых цитогенетическим исследованиям ОПМЛ, описания вариантных транслокаций у пациентов с ОПМЛ с участием гена *RARα* и разными регионами длинных плеч хромосом 1 и 3 встречаются в единичных случаях. Случаев транслокации, подобной выявленной нами, не обнаружено, описано участие в транслокациях наряду с 17q12 следующих регионов: 3q26, 3q29, 3p25, 1q12, 1q22, 1p36. Обследованная нами пациентка погибла в результате прогрессии заболевания с клиникой экстремедулярных мягкотканых проявлений, рефрактерных к терапии, что подтверждает данные о резистентности к стандартной терапии пациентов с диагнозом ОПМЛ и наличием вариантных транслокаций (за исключением транслокации $t(11;17)(PLZF-RARα)$.

Цитогенетические эффекты модельных мутагенов в ооцитах мышей

Плигина К.Л., Жанатаев А.К., Чайка З.В., Дурнев А.Д.
ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», Москва, Россия
kira-pligina@rambler.ru

Сегодня отсутствует надёжная общепринятая тест-система оценки хромосомных нарушений в генеративных клетках млекопитающих, в частности, анеуплоидии. Это обуславливает необходимость поиска новых методологических подходов к оценке анеугенных эффектов в генеративных клетках. Основные методические трудности на этом пути связаны с получением достаточного цитогенетического материала с сохранённой морфологией хромосом и без артефактных потерь хромосомного материала, особенно при работе с ооцитами.

Нами разработана оригинальная методика получения цитогенетических препаратов метафазных хромосом ооцитов мышей. С целью её валидации проведена оценка цитогенетических эффектов модельных мутагенов — колхицина, паклитаксела, этопозида, цисплатина, циклофосфамида и диоксида. Материалом исследования служили ооциты мышей, полученные в результате индуцированной гормонами суперовуляции. Методика включала этапы выделения ооцитов, удаления зоны пеллюциды, гипотонической обработки, фиксации, окраски, микрофотографирования с получением цифровых изображений метафазных пластинок и их анализ.

Установлено, что мутагены колхицин (0,2—0,4 мг/кг), паклитаксел (2,5—7,5 мг/кг), цисплатин (5—10 мг/кг) и этопозид (10—60 мг/кг) проявляют анеугенный эффект в ооцитах мышей. Колхицин и паклитаксел вызывали остановку созревания ооцитов и их овуляцию на стадии метафазы I мейоза (MI). Наблюдалась ооциты с преждевременным расхождением сестринских хроматид и с полиплоидным набором хромосом. Этопозид, помимо анеугенного эффекта, обладал выраженной кластогенной активностью, в том числе, наблюдались хроматидные разрывы и обмены различного типа. При использовании этопозида в дозах 40 и 60 мг/кг наблюдались множественные повреждения хромосом ооцитов. Дозозависимо возрастало количество ооцитов с преждевременным расхождением сестринских хроматид. Не выявлено анеугенной активности и кластогенных эффектов циклофосфамида (10—80 мг/кг) и диоксида (300 мг/кг) в ооцитах мышей.

Полученные данные свидетельствуют, что разработанная методика позволяет надёжно и разносторонне регистрировать эффекты заведомых анеугенов в ооцитах мышей, что является необходимым этапом её валидации с целью внедрения в программы доклинического генетического скрининга лекарств.

Совершенствование работы с диспансерной группой пациентов с фенилкетонурией в Свердловской области

Подолina В.К., Тиунова Е.Ю., Никитина Н.В.

ГБУЗ Свердловской области «Клинико-диагностический центр «Охрана здоровья матери и ребёнка», г. Екатеринбург, ул. Флотская, д. 52
mgc@etel.ru

Ежегодно, в среднем, в Свердловской области рождаются 10 детей с фенилкетонурией (ФКУ). Частота заболевания составляет 1:6940. В настоящее время на диспансерном («Д») учёте в ГБУЗ СО «КДЦ «ОЗМР» состоят 191 чел. с классической ФКУ, в том числе детей — 147, пациентов старше 18 лет — 44. ДНК-исследования проведены 167 пациентам (87%) в лаборатории молекулярной диагностики Центра. 139 детей (95%) находятся на диетотерапии, все получают аминокислотные смеси. Наблюдение пациентов осуществляется в соответствии с Российскими и Международными рекомендациями.

В целях повышения эффективности «Д» наблюдения больных ФКУ Министерством здравоохранения Свердловской области был издан приказ от 13.11.2012 г. «Об оказании медицинской помощи детям, страдающим фенилкетонурией», в котором были поставлены чёткие задачи диспансерного наблюдения за детьми с ФКУ перед педиатрической службой. В течение 2013—2014 гг. были проведено 7 однодневных обучающих семинаров для участковых врачей, осуществляющих «Д» наблюдение, на тему: «Классическая ФКУ, патогенез, клиника, лечение. Принципы диетотерапии», обучено 80 участковых педиатров.

Впервые в 2014 г. в рамках летней оздоровительной кампании на базе загородного отделения восстановительной медицины ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница №1» прошли курс реабилитации 15 детей с ФКУ в возрасте с 3 до 14 лет. В день поступления детям определялся уровень фенилаланина (ФА) крови, у всех детей отмечалось превышение допустимых значений. Проводилось лечение: низкобелковая диета, аминокислотные смеси, минеральная вода, витамины А и Е, лечебная гимнастика, массаж, закаливающие процедуры, терренкур, спелеотерапия, сухие углекислые ванны, физиопроцедуры. У 100% детей был получен положительный оздоровительный эффект, уровень ФА крови по истечении срока реабилитации у всех детей снизился, в среднем в 2,4 раза.

С января 2014 г. пациенты с ФКУ старше 18 лет стали обеспечиваться специализированными продуктами лечебного питания без фенилаланина за счёт средств областного бюджета. Получают лечебные продукты 20 человек.

С 2013 г. ведется мониторинг течения беременности и родов женщин с ФКУ, а также спектра пороков и нарушений развития у детей, родившихся от матерей с ФКУ.

В 2015 г. планируется проведение пациентам с ФКУ ультразвуковой денситометрии для диагностики остеопороза на ранней стадии.

Итоги мониторинга врождённых пороков развития в Амурской области

Поздеева Т.Ю., Самохвалов В.А., Иванова А.В.

ГАУЗ Амурская областная клиническая больница. Центр охраны здоровья семьи и репродукции. Медико-генетическая консультация
675028, Благовещенск, ул. Воронкова, 26
E-mail: samgenam@rambler.ru

Проведён анализ мониторинга врождённых пороков развития (ВПР) на территории Амурской области за период 2010—2013 гг. Регистрация ВПР у плодов и детей проведена с использованием учётной формы №025-11у-98. по принципу сплошной регистрации. Регистрационная форма заполнялась специалистами областного перинатального центра, родильных домов, детских стационаров и поликлиник, патологоанатомических отделений области. За период 2010—2013 гг. в учредениях родовспоможения области родилось 45 107 новорождённых и зарегистрировано 1223 случая ВПР. Из когорты

ВПР исключены карты детей с косолапостью и односторонним крипторхизмом. Частота ВПР в Амурской области за этот период составила 27,11. Распределение частоты ВПР по годам: 2010 г. — 27,19; 2011 г. — 24,86; 2012 г. — 26,61; 2013 г. — 29,68. В структуре ВПР за указанный период наибольший удельный вес имели ВПР сердечнососудистой системы 10,80%, костно-мышечной системы 5,08%, нервной системы — 4,23%, мочеполовой системы — 3,92%, множественные ВПР — 1,88%. Хромосомная патология — 2,02%. Представлены частоты мониторируемых ВПР наиболее значимые для прогноза жизни и здоровья новорождённых. Сердечно-сосудистая система: транспозиция крупных сосудов — 0,38; гипоплазия левого сердца — 0,09. Частоты ВПР нервной системы: анэнцефалия — 0,33; энцефалоцеле — 0,11; спинномозговая грыжа — 1,09; гидроцефалия — 0,93. Частоты ВПР лицевого черепа: расщелина губы — 0,80; расщелина нёба — 0,62. Частоты ВПР желудочно-кишечного тракта: атрезия ануса — 0,22; атрезия пищевода — 0,24; диафрагмальная грыжа — 0,31; омфалоцеле — 0,33; гастрошизис — 0,33. Частоты ВПР мочеполовой системы: агенезия почек — 0,07; экстрофия мочевого пузыря — 0,04; гипоспадия — 1,04; ВПР костно-мышечной системы: редукционные пороки конечностей — 0,24. Увеличение частоты синдрома Дауна (СД) в течение периода 2010—2013 гг. связано с внедрением раннего пренатального скрининга на синдром Дауна.

Частоты СД по итогам мониторинга

	2010	2011	2012	2013
Живорождённые с СД	6	9	9	10
Мертворождённые с СД	0	0	1	0
Плоды с СД	6	4	9	15
Всего детей с СД	12	13	19	25
Всего новорождённых	11 328	10 699	11 761	11 319
Частота (на 1000 рождений)	1,06	1,22	1,62	2,21

Мутационный скрининг гена *ATP7B* при гепатолентикулярной дегенерации

**Полещук В.В.¹, Благодатских К.А.²,
Коновалова Н.В.², Степанова М.С.¹,
Карабанов А.В.¹, Иванова-Смоленская И.А.¹**

¹ ФГБНУ «Научный центр неврологии», 125367, Москва, Волоколамское ш., 80
pol82@yandex.ru

² ЗАО «Синтол», 127550, Москва, ул. Тимирязевская, д. 42

Гепатолентикулярная дегенерация (ГЛД, болезнь Вильсона) — тяжёлое аутосомно-рецессивное заболевание, связанное с системным нарушением распределения меди в организме (дискупринозом) и последующим патологическим её депонированием в органах — мишенях (печени, мозге, почках). Клиническая картина определяется поражением вышеуказанных органов и система. Патогенез заболевания связан с повреждением гена *ATP7B*, расположенного на 13-й хромосоме и кодирующего Cu^{2+} -АТФазу. В настоящее время в гене *ATP7B* известно более 500 различных мутаций, с этим связывают полиморфизм клинической картины ГЛД. В ряде работ была найдена связь между типом мутации и характером течения заболевания, а также эффективностью действия препаратов и их переносимостью.

В нашей работе обследовано 156 пациентов с ГЛД. На предварительном этапе методом ПЦР в реальном времени на приборе «АНК-32» (Россия, Синтол) проведён мутационный скрининг пациентов на наличие наиболее распространённой в российской популяции мутации с.3207С>А (Н1069Q) в 14-м экзоне гена *ATP7B*. Среди обследованных пациентов выявлено 52 с гомозиготной мутацией с.3207С>А и 45 пациентов с гете-

розиготным носительством мутации. Таким образом, эта мутация встречалась у 62% пациентов, что подтверждает данные о распространённости этой мутации в славянской популяции.

В образцах ДНК пациентов, гетерозиготных по с.3207C>A либо не имевших эту мутацию, был проведён дальнейший молекулярный скрининг методом секвенирования на приборе «Нанофор-05» (Россия, Синтол). Были проанализированы 5 экзонов (экзоны 2, 8, 14, 18, 19), в которых мутации встречаются наиболее часто, при этом выявлено 10 различных мутаций у 28 пациентов. Инсерция с.2298_2299insC в 8-м экзоне найдена у 11 пациентов, что позволяет сделать вывод о распространённости данной мутации в российской популяции. Мутация с.3809A>G в 18-м экзоне выявлена у 5 пациентов, с.3190G>A — у четырёх, с.3942delCA+3947delG — у двоих, остальные мутации (с.3191A>C, с.2128G>A, с.2336G>A, с.2333G>T, с.3806T>G, с.3818 C>T) встречались только по одному разу. Мутация с.3806T>G в 18-м экзоне (охарактеризованная по алгоритму SIFT как патогенная) в литературе ранее не описана.

Исследование проведено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (соглашение №14.607.21.0094 о предоставлении субсидий).

Гены ферментов биотрансформации ксенобиотиков и антиоксидантной защиты как генетическая основа развития мужского идиопатического бесплодия

Полоников А.В., Ярош С.Л., Кохтенко Е., Солодилова М.А., Стародубова Н.И.

*Курский государственный медицинский университет, г.Курск, ул. Карла Маркса, 3
e-mail: polonikov@rambler.ru*

Результаты многочисленных экологических и эпидемиологических исследований демонстрируют потенциальную этиологическую роль экотоксикантов в возникновении бесплодия и нарушений сперматогенеза у мужчин. В этой связи при выполнении генетических исследований представляется крайне важной совместная оценка влияния комплекса генов, вовлечённых в эндогенную биотрансформацию ксенобиотиков и антиоксидантную защиту, на развитие идиопатического мужского бесплодия (ИМБ). В рамках настоящего исследования проведена комплексная оценка вовлечённости полиморфизма генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков и антиоксидантной защиты в развитие ИМБ. Материалом для исследования послужила выборка неродственных мужчин (203 больных ИМБ и 227 здоровых мужчин), сформированная на базе Центра планирования семьи и репродукции Курской области за период с 2006 по 2008 гг. Диагноз ИМБ устанавливался в соответствии с рекомендациями ВОЗ. Генотипирование ДНК-полиморфизмов проводилось методами ПЦР и рестрикционного анализа. Установлены статистически значимые ассоциации ИМБ с полиморфными вариантами генов *GSTT1* (del), *GSTP1* (rs1695) и *CYP1A1* (rs1048943). Полиморфизмы генов *GSTT1*, *CYP1A1*, *NAT2* (rs1799929) и *GSTP1* ассоциировались с риском развития бесплодия у мужчин, имеющих факторы риска, провоцирующие возникновение окислительного и/или химического стресса, а именно курение, злоупотребление алкоголем и низкий уровень потребления свежих овощей и фруктов. Между локусами *ABCB1* (rs1045642), *EPHX1* (rs2234922, rs1051740), *CYP1A1*, *PON2* (rs7493), *NAT2* и *GSTP1* и указанными факторами риска наблюдался синергизм в негативном влиянии на параметры спермограммы у бесплодных мужчин. Установлены парные сочетания между генами *CYP1A1*, *GSTT1*, *EPHX1*, *CYP2E1*, *GSTP1*, *GSTM1*, *NAT2* и *PON2*, которые показали наиболее выраженные ассоциации ($P < 0.001$) с риском развития ИМБ. Методом MDR установлена трёхлокусная модель взаимодействия между генами *GSTP1* rs105V, *ABCB1*

3435C>T и *Nat2* 481C>T ($p = 0,01$), сопряжённая с развитием ИМБ. Таким образом, полиморфные варианты генов биотрансформации ксенобиотиков и антиоксидантной защиты представляют собой полигенную основу предрасположенности к мужскому бесплодию, а их неблагоприятные сочетания фенотипически проявляются при провоцирующем влиянии неблагоприятных факторов среды химической природы.

Маркёры клонального гемопоэза при Ph-негативных миелопролиферативных неоплазиях (Ph(-)ХМПН)

Полушкина Л.Б., Мартынкевич И.С., Петрова Е.В., Мартыненко Л.С., Иванова М.П., Цыбакова Н.Ю., Клеина Е.В., Жернякова А.А., Фоминых М.С., Шуваев В.А., Абдулкадыров К.М.

*ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, д.16
polushkina.lb@gmail.com*

Опубликованные в 2013 г. работы, описывающие повторяющиеся мутации — инсерции и делеции — в 9 экзоне гена кальретикулина *CALR* у пациентов с Ph(-)ХМПН, позволяют рассматривать данные мутации как новый клональный маркёр.

Целью исследования было определить частоту встречаемости мутаций в генах *JAK2*, *MPL*, *CALR* и проанализировать общую выживаемость (ОВ) больных Ph(-) ХМПН с различными клональными маркёрами. В исследование включены 182 больных Ph(-) ХМПН: 76 — с истинной полицитемией (ИП), 63 — с эссенциальной тромбоцитемией (ЭТ) и 43 — с первичным миелофиброзом (ПМФ). У всех пациентов изучены *JAK2V617F*-статус (ПЦР-ПДРФ), у *JAK2V617F*(-) больных ИП — 12 экзон гена *JAK2* (прямое секвенирование), у пациентов с ЭТ или ПМФ — мутации в 515 кодоне гена *MPL* (ПЦР-ПДРФ) и мутации в 9 экзоне гена *CALR* (анализ кривых плавления) с последующим уточнением типа мутации.

Мутация *JAK2V617F* обнаружена у 74/76 (97,3%) пациентов с ИП, у 26/63 (41,27%) — с ЭТ и у 21/43 (48,83%) — с ПМФ. Мутации в 12 экзоне гена *JAK2* выявлены у 2/76 (2,7%) пациентов с ИП, мутации в 515 кодоне гена *MPL* — у 3/43 (6,97%) больных с ПМФ и у 3/63 (4,76%) пациентов с ЭТ. Частота встречаемости мутаций в 9 экзоне гена *CALR* у пациентов с ЭТ и ПМФ составила 20,63% (13/63) и 13,95% (6/43) соответственно. Анализ ОВ пациентов не выявил достоверных отличий в группах пациентов *JAK2*(+), *MPL*(+), *CALR*(+) и без мутаций ($p = 0,127$). Однако, было отмечено, что при 100% ОВ больных с мутациями в гене *CALR*, выживаемость пациентов без молекулярно-генетических маркёров равнялась 80%, в то время как у больных с *MPL*(+) она составила всего 67%. Анализ данных карриологического исследования изучаемой группы больных показал, что прогностически неблагоприятные хромосомные aberrации (+7, +8, del(5q), комплексный кариотип) определялись у 4 из 6 умерших пациентов и способствовали ухудшению показателей ОВ в *MPL*(+) группе пациентов. Таким образом, комплексная генетическая диагностика Ph(-) ХМПН с детекцией цитогенетических и молекулярно-генетических маркёров опухолевых клеток имеет определяющее значение в установлении не только диагноза заболевания, но и прогнозировании его течения.

Спектр мутаций в гене *KCNQ1* у российских пациентов с синдромом удлинённого интервала QT

Поляк М.Е.¹, Макаров Л.М.², Яковлева М.В.¹, Поляков А.В.³, Заклязьминская Е.В.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр хирургии им. академика Б.В. Петровского»,

Москва, margaritapolyak@gmail.com

² Центр синкопальных состояний и сердечных аритмий у детей и подростков (ЦСССА) ФМБА России, Москва

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Медико-генетический научный центр», Москва

Синдром удлинённого интервала QT (LQTS) характеризуется удлинением корригированного интервала QTc и высоким риском внезапной сердечной смерти (ВСС) вследствие развития полиморфной желудочковой тахикардии. В настоящее время известно 13 генов, мутации в которых приводят к развитию LQTS. Однако при скрининге всех известных генов мутации выявляются в 65–75% случаев. ДНК-диагностика проводилась больным с направляющим диагнозом «синдром удлинённого интервала QT» за период с 1997 г. по 2014 г. В настоящей работе мы представляем результаты анализа спектра мутаций в гене *KCNQ1*.

За период 1997–2014 гг. было обследовано 130 семей с диагнозом «синдром удлинённого интервала QT». Выделение ДНК проводилось стандартными методами. Секвенирование полной кодирующей последовательности и прилегающих интронных областей выполнялось на автоматических секвенаторах по протоколам фирм. Для родственников пробанда анализ фрагмента гена проводился методом ПЦР-ПДРФ.

В гене *KCNQ1* было выявлено 36 мутаций в 44 семьях (33,8% случаев). Полученные данные сопоставимы с частотой мутаций в гене *KCNQ1* в других этнических группах. Наиболее часто (86%) обнаруживались миссенс-мутации. В 14% случаев были выявлены мутации сплайсинга. За время наблюдения нами была обнаружена только 1 делеция со сдвигом рамки считывания; нонсенс-мутаций обнаружено не было. Было выявлено два генетических варианта с неустановленным клиническим значением. Наибольшее число мутаций было выявлено в экзонах 1, 6, 7, 8, 9, 16, но, несмотря на это, мы считаем целесообразным проводить поиск мутаций во всей кодирующей последовательности гена *KCNQ1*. У трёх (2%) пробандов в нашей выборке было обнаружено по две мутации в гене *KCNQ1*. У всех носителей двух мутаций наблюдались раннее начало заболевания и гораздо более тяжёлое течение.

Аллельные заболевания при мутациях в гене коннексина 26 — *GJB2*

Поляков А.В.¹, Близнец Е.А.¹,
Галкина В.А.¹, Маркова Т.Г.²

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва, Россия

² Федеральное государственное учреждение «Российский научно-практический центр аудиологии и слухопротезирования Федерального Медико-биологического агентства», Москва, Россия

В России причиной половины случаев тяжёлого врождённого двустороннего сенсоневрального нарушения слуха является наличие мутаций в гене *GJB2*, кодирующем последовательность коннексина 26. В мире у пациентов с тугоухостью выявлено более 300 мутаций в гене *GJB2*, преобладающее большинство которых обуславливает синтез функционально неполноценного коннексина 26 (или отсутствие синтеза) и приводит к формированию несиндромального нарушения слуха с аутосомно-рецессивным типом наследования. Около 30 редких мутаций в гене *GJB2* имеют особую локализацию и проявляют доминантно-негативный эффект, что приводит к тугоухости или глухоте с аутосомно-доминантным типом наследования, в ряде случаев сочетающихся с заболеваниями кожи. Распространённость редких доминантных форм нарушения слуха, обусловленных мутациями в гене *GJB2*, точно не установлена. До настоящего времени в мире описано около 150 случаев несиндромальной и синдромальной тугоухости/глухоты данного генетического типа.

В выборке 653 неродственных российских пациентов с нарушением слуха, обусловленным мутациями в гене *GJB2*, выявлены 4 пациента с мутациями, проявляющими доминантно-негативный эффект, что составляет 0,6%. Два ребёнка имеют врождённое двустороннее нарушение слуха IV степени без признаков заболевания других органов и являются носителями мутации p.Arg184Gln (R184Q) в гетерозиготном состоянии. У двух других детей обнаружена мутация p.Asp50Asp (D50N) в гетерозиготном состоянии, которая вызывает развитие синдрома кератита-ихтиоза-глухоты (KID-syndrome). Помимо врождённой двусторонней сенсоневральной тугоухости у детей выявлена сухость кожи, признаки гиперкератоза и гипотрихоза. При семейном анализе во всех случаях выявлена вертикальная передача заболевания. Тип наследования и синдромальная форма тугоухости были выявлены на этапе молекулярно-генетического исследования, что демонстрирует важность данного исследования для дифференциальной диагностики как несиндромальных, так и некоторых синдромальных форм нарушения слуха.

Идентификация причины заболевания в большой семье с поздней АД мышечной дистрофией методом NGS

Поляков А.В., Рыжкова О.П., Дадали Е.Л.

ФГБНУ «МГНЦ», Москва, ул. Москворечье д.1
oxana-ryz@rambler.ru

Мышечные дистрофии (МД) — группа заболеваний, характеризующаяся прогрессирующей мышечной слабостью и дегенерацией скелетной мускулатуры. На сегодня известно более 50 различных форм, большая часть которых наследуется по аутосомно-рецессивному и X-сцепленному типу. Аутосомно-доминантные (АД) формы составляют 10–15% от всех МД и, в большинстве случаев, характеризуются более поздним началом и более лёгкой тяжестью течения. До сих пор примерно для половины АД форм МД не установлен ген, обуславливающий развитие заболевания.

В 2011 г. было проведено обследование семьи с МД включающей 80 чел. в шести поколениях. Десять из них умерли ранее, о двоих не было данных и 4 моложе возраста манифестации. Диагноз был подтвержден у 8 членов семьи, со слов родственников у шести умерших также были проявления МД. При дальнейшем биохимическом исследовании уровня КФК были выявлены ещё 4 больных. Заболевание манифестировало во второй — третьей декаде и характеризовалось достаточно мягким течением. Инвалидизация наступала на 6–7 декаде жизни. При анализе родословной был установлен АД тип наследования.

Методом автоматического секвенирования было проведено исследование кодирующих последовательностей генов *LMNA*, *A/C*, *CAV3*, *TTID*, приводящих к поздним формам АД МД. Мутаций обнаружено не было.

В 2014 г. ДНК четырёх больных исследована в двух различных организациях (по 2 образца) методом полногеномного секвенирования (NGS). В результате работы у каждого из пробандов были найдены предположительно значимые мутации в генах *COL6A3*, *NEB*, *TTN*, *ITGA7*, *RYR1*. Однако при сравнении всех полученных заключений ни одной общей замены выявлено не было.

Нами были заново проанализированы исходные данные NGS для всех больных. Выявлены по 1,2–1,3 млн различных изменений у каждого, в более чем 20 тысячах генов. В области экзона количество изменений составляло 20–24 тыс. на пациента. Дальнейший анализ проводился только для замен с долей «мутантного» аллеля $</ = 0,005$ и неописанных изменений, встретившихся в гетерозиготном состоянии. Их количество варьировало от 805 до 1202. Сравнив всех пациентов, было обнаружено 64 общие замены в 18 различных генах, не сходных с обна-

руженными ранее. На основе данных литературы отобраны 6 за- мен в пяти генах, для которых проводится дальнейшее исследо- вание.

Особенности клинических проявлений у больных СМА, обусловленной точковыми мутациями в компаунд-гетерозиготном состоянии с делецией экзонов 7 и/или 8 гена SMN1

Поляков А.В.¹, Забненкова В.В.¹, Артемьева С.Б.², Руденская Г.Е.¹, Дадали Е.Л.¹

¹ ФГБНУ «МГНЦ»; 115478, Россия, Москва, ул. Москворечье, д. 1, V_Zabnenkova@dnlab.ru
² ОСП «НИКИ» ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрав России; 125412, Россия, Москва, ул. Талдомская, д. 2

Проксимальная спинальная мышечная атрофия (СМА) I—IV типа — одно из наиболее распространённых аутосомно-рецессивных заболеваний, характеризующихся в большинстве случаев тяжёлым инвалидизирующим течением. К возникновению проксимальной СМА приводят мутации в телемерной копии гена SMN (SMN1). Основным типом мутаций в этом гене являются делеции экзонов 7 и/или 8, которые выявлены у 95% больных. Остальные 5% больных имеют делецию в одной копии гена SMN1 и точковую мутацию в другой в компаунд-гетерозиготном состоянии. Нами представлены клинико-генетические характеристики восьми больных проксимальной СМА I—III типов, имеющих малые мутации в гене SMN1 в компаунд-гетерозиготном состоянии с делецией 7 и/или 8 экзонов (таблица).

Анализ наиболее часто встречающихся мутаций в гене CFTR у больных муковисцидозом из различных регионов России

Поляков А.В.¹, Степанова А.А.¹, Красовский С.А.²

¹ ФГБНУ «МГНЦ», Москва
² ФГБУ НИИ пульмонологии ФМБА России, Москва, Россия

Муковисцидоз (МВ) (кистозный фиброз поджелудочной железы) — тяжёлое аутосомно-рецессивное заболевание, вы-

зываемое мутациями в гене CFTR (трансмембранный регулятор муковисцидоза). На сегодняшний день в гене CFTR описано более 1900 мутаций.

Проведено исследование ДНК больных МВ из различных регионов России для оценки частоты встречаемости 19 мутаций: CFTRdele2,3(21kb), F508del, I507del, I677delTA, I2143delT, I2184insA, I394delTT, I3821delT, I1138ins, I604insA, I3944delTG, G542X, W1282X, N1303K, R334W и 3849+10kbC>T, S1196X, G21+1g>t, E92K гена CFTR, являющихся наиболее частыми на территории Российской Федерации, и определения расчётной частоты муковисцидоза в РФ. Для анализа были получены образцы крови от 1175 неродственных больных с входящим диагнозом МВ из различных регионов России, направленные в лабораторию ДНК-диагностики ФГБНУ МГНЦ для подтверждения диагноза.

В ходе определения популяционной частоты носительства 19 мутаций в гене CFTR было выявлено 29 гетерозиготных носителя среди 922 образцов ДНК популяционной выборки. Частота носительства мутации F508del составила 1 на 71 чел. (1,4% (0,63—2,19%, при 95%ДИ)). Частота носительства хотя бы одной из 19 исследуемых мутаций составила 1 на 32 чел. (3,15% (2,12—4,29% при 95%ДИ)).

При анализе ДНК 1175 неродственных больных МВ было выявлено 17 из 19 исследуемых мутаций. Наиболее частая мутация F508del встретилась в исследуемой выборке на 425 хромосомах. Мутации I507del и I3944delGT не встретились ни на одной из хромосом. У 269 больных мутации были выявлены на обоих хромосомах, у 139 больных на одной хромосоме. У 767 обследуемых не было выявлено ни одной мутации. Для определения реального числа больных МВ в исследуемой выборке мы использовали значения частот выявленных генотипов по мутации F508del. Исходя из того, что наблюдаемое соотношение генотипов должно соответствовать отношению Харди—Вайнберга, было рассчитано общее количество больных МВ — 386 чел., а у оставшихся 789 обследованных повреждения в гене CFTR не являются причиной заболевания.

Таким образом, определена суммарная информативность системы регистрации 19 частей мутаций в гене CFTR — 85% и аллельные частоты исследуемых мутаций: три мутации встретились с частотой более 5% (F508del — 53,98%, E92K — 6,47%, CFTRdele2,3(21kb) — 5,35%), остальные мутации встретились с частотой от 0,13% до 3,0%. У больных МВ чаще всего наблюдался генотип — мутация F508del в гомозиготном состоянии. Второй по частоте генотип у больных МВ с двумя выявленными мутациями оказался генотип — мутации F508del и CFTRde-

Клинико-генетическая характеристика обследованных больных СМА

Ф.И.О.	З-ч	М-в	Ш-ко	Ф-на	Г-ян	Г-ец	Н-ва	С-ов
Тип СМА	I	I	I	I	I	I	III	III
Мутация (del 7-8 + minor mut)	c.43C>T (p.Gln15X)	c.824G>C (p.Gly275Ala)	c.836G>T (p.Gly279Val)	c.824G>C (p.Gly275Ala)	c.835-2A>T	c.815A>G (p.Tyr272Cys)	c.684dupA	c.821C>T (p.Thr274Ile)
Пол	М	М	М	Ж	М	М	Ж	М
Возраст начала (мес.)	0	0	0	4	4	0	12	36
Возраст осмотра (мес.)	4	46	20 дн.	108	6	1	84	444
Мышечная гипотония	+	+	+	+	+	+	+	+
Гипо/арефлексия с рук	+	+	+	+	+	+	+	+
Гипо/арефлексия с ног	+	+	+	+	+	+	+	+
Тремор пальцев кистей	+	+	+	+	+	+	—	+
Тремор языка	+	+	+	—	+	+	—	+
Контрактура коленных суставов	—	+	+	+	+	+	—	+
Контрактура голеностопных суставов	—	+	+	—	—	—	—	—
Контрактура локтевых суставов	—	—	—	—	+	+	—	+
Дыхательная недостаточность	+	+	+	—	+	+	—	—
КФК (ед/л)	190	70	53	139	93	125	186	186

le2,3 в компунд-гетерозиготном состоянии, тогда как генотип — мутация F508del в компунд-гетерозиготном со второй по частоте мутацией E92K, оказался третьим по частоте.

С учётом информативности исследования поиска 19 мутаций в гене *CFTR* у больных МВ — популяционная частота МВ составляет 1 на 26 чел., а расчётная частота МВ — 1 на 2704 новорождённых.

Аутосомно-рецессивные формы в выборке девочек с направляющим диагнозом «Мышечная дистрофия Дюшенна/Беккера»

Полякова Д.А., Рыжкова О.П., Забненкова В.В., Логинова А.Н., Комарова Н.В., Поляков А.В.

ФГБНУ «МГНЦ», Москва
oxana-ryz@rambler.ru

Мышечные дистрофии — группа генетических заболеваний, включающая около 50 различных заболеваний, объединённых общим для всех клиническим симптомом: генерализованной прогрессирующей атрофией скелетных мышц. Мышечная дистрофия Дюшенна (МДД) — самое частое заболевание среди всех мышечных дистрофий. Встречается с частотой 1 на 3—3,5 тыс. новорождённых мальчиков.

Поясно-конечностные мышечные дистрофии (ПКМД) — обширная группа отличных от других мышечных дистрофий заболеваний. Клинически они характеризуются поражением проксимальных частей верхних и нижних конечностей. Частота заболеваемости поясно-конечностными мышечными дистрофиями с аутосомным типом наследования составляет 1 : 10 000 чел. При этом на долю рецессивных форм ПКМД приходится 85%.

Клинические проявления МДД и AP форм ПКМД очень схожи, что может приводить к ошибкам при постановке клинического диагноза.

Мышечная дистрофия Дюшенна (Дюшенна/Беккера) — рецессивное заболевание, сцепленное с половой X-хромосомой. Обычно заболевание проявляется у мужчин. Но возможны три генетических варианта, когда девочка, имея мутацию в одной копии гена *DMD*, будет не носительницей данного заболевания, а больной: наличие полной или мозаичной форм синдрома Шерешевского—Тернера (ХО); несбалансированная лайонизация X-хромосомы без мутации; мутация *de novo* в гене дистрофина во второй копии X-хромосомы.

В результате исследования генов дистрофина, саркогликанов, а также *CAPN3*, *FKRP* и *SMNc* у 38 девочек с направляющим диагнозом «миодистрофия Дюшенна/Беккера» было показано что: ни у одной девочки с МДД/МДБ диагноз на молекулярно-генетическом уровне не подтвердился (мутации в гене *DMD* не обнаружены), примерно в половине случаев (44,8%) обнаружены мутации в генах AP ПКМД. Доли заболеваний распределились следующим образом: ПКМД2D (*SGCA*) — 13,2%, ПКМД2I (*FKRP*) — 13,2%, ПКМД2A (*CAPN3*) — 13,2%, ПКМД2E (*SGCB*) — 2,6%, СМА (*SMNc*) — 2,6%. В 33,3% случаев с неравной лайонизацией X хромосомы подтверждены AP формы ПКМД, что доказывает, что данный метод не может являться подтверждающим для диагностики МДД/МДБ у девочек.

В результате работы был предложен алгоритм молекулярно-генетической диагностики девочек с клиническим диагнозом МДБ/МДД.

Влияние менопаузы на детерминированность фенотипических признаков

Полякова И.В.^{1,2}, Готов О.С.^{1,2}, Лещев Д.В.^{3,4}, Готов А.С.^{1,2}, Пакин В.С.¹, Жукова Е.А.¹, Насыхова Ю.А.¹, Асеев М.В.¹

¹ ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д.3;

irena.88@inbox.ru

² СПбГУ, Санкт-Петербург, Университетская набережная, 7/9

³ СПб ГБУЗ «Городская больница №40», Санкт-Петербург, г.Сестрорецк, ул. Борисова, д. 9

⁴ СПбПУ, Санкт-Петербург, Политехническая, 29.

Известно, что различный уровень липидов в крови ассоциирован с полиморфизмом ДНК и зависит от действия факторов внешней среды. Решающее влияние на физиологические и биохимические показатели у женщин оказывает менопауза. У женщин часто отмечаются сниженные показатели общего холестерина (ОХ), липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), низкий уровень холестерина липопротеинов высокой плотности (ЛПВП). Проведён анализ ассоциации полиморфизма генов метаболизма липидов с уровнями ОХ, ЛПНП, ЛПВП и ЛПОНП у женщин до и после менопаузы с целью разработки общей модели становления этих фенотипических признаков. Исследования проведены на 2х группах женщин Северо-Западного региона России (273 и 213 человек) в возрасте от 19 до 79 лет. У всех женщин проведён анализ ХС сыворотки крови и его комплексов с ТГ, ЛПВП, ЛПНП, ЛПОНП. Методом ПЦР-ПДРФ анализа изучены аллельные варианты функционально значимых полиморфных сайтов 13 генов метаболизма: *LPL* (Rs 328), *LIPC* (Rs 1800588), *ABCA1* (Rs 3890182), *FAD* (Rs 174570), *LIPE* (Rs 34845087), *PPARG* (Rs 1801282), *GHS-R* (Rs 572169), *TFAP2B* (Rs 987237), *LPIN1* (Rs 2716609), *JAZF1* (Rs 849140), *ApoA1* (Rs 4938303), *ApoB* (Rs 6754295), *ApoE* (Rs 429358, Rs 7412). В обеих выборках установлена неслучайная ассоциация содержания ОХ и его метаболитов с аллельными вариантами 11 генов *LPL*, *LIPC*, *ABCA1*, *FAD*, *LIPE*, *PPARG*, *GHS-R*, *TFAP2B*, *LPIN1*, *JAZF1*, *ApoA1*. Разработаны модели, позволяющие проводить первичную оценку изученных биохимических параметров с помощью тестирования соответствующих генетических маркёров для обеих выборок. Проведено сравнение моделей на основе скорректированного коэффициента детерминации (adjusted R²). Значение скорректированного коэффициента детерминации (adjusted R-squared) выше по всем изучаемым параметрам в группе женщин после менопаузы по сравнению с группой до менопаузы. Полученные результаты доказывают неслучайную ассоциацию уровня ОХ и липидного обмена с аллельными вариантами 11 изученных генов.

Полиморфизмы генов TLRs и риски развития инфекционного эндокардита

Понасенко А.В., Хуторная М.В., Кутихин А.Г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Россия, г.Кемерово, ул.Сосновый бульвар, 6
e-mail: ponasenkoav@yandex.ru

Toll-подобные рецепторы (Toll-like receptors — TLRs) являются ключевыми эффекторами врождённого иммунитета, играя важную роль в распознавании инфекционных агентов. В то же время в патогенез инфекционного эндокардита (ИЭ) вовлечены бактериемия, травма эндокарда и изменение иммунного реагирования. Сделано предположение, что наследственные межиндивидуальные различия структуры TLRs могут влиять на восприимчивость к бактериальным агентам и являться генами-кандидатами ИЭ.

Для подтверждения гипотезы мы проанализировали распределение генотипов и аллелей 8 полиморфизмов 4 генов: *TLR1* (rs5743551, rs5743611), *TLR2* (rs3804099, rs5743708), *TLR4* (rs4986790, rs4986791), *TLR6* (rs3775073, rs5743810). Опытную группу составили 110 больных ИЭ, принадлежащих к русскому этносу. Контрольная группа сформирована из 300 асимптоматичных здоровых доноров крови без истории сердеч-

но-сосудистых и аутоиммунных заболеваний, без основных факторов риска развития ишемических событий, а также сопоставимых с опытной группой по полу, возрасту и этнической принадлежности. Все участники исследования проживают на территории Западной Сибири. Генотипирование проводилось в 96-луночном формате методом аллель-специфичной ПЦР в реальном времени. Статистический анализ результатов генотипирования проводился посредством программы SNPStats.

Определена ассоциация генотипа С/С полиморфизма rs3775073 *TLR6* со снижением риска развития ИЭ (ОШ = 0,51; 95%ДИ = 0,26–0,97; $p = 0,032$) по рецессивной модели наследования. Других статистически значимых ассоциаций между исследованными нами полиморфизмами генов *TLRs* с ИЭ не выявлено. Также не было найдено статистически значимых различий при стратификации опытной и контрольной групп по гендерным и возрастным подгруппам, а также при сравнении частот гаплотипов в опытной и контрольной группах.

Выявлено, что наследственные межиндивидуальные различия в структуре генов системы *TLRs* определяют риски развития ИЭ. Однако окончательные результаты ещё не получены и необходимо проведение дальнейших исследований по определению вклада полиморфизмов генов врождённого иммунитета в развитии ИЭ.

Анализ статуса метилирования LINE-1 повторов в циркулирующих ДНК крови в мониторинге рака лёгкого

Пономарева А.А.^{1,3}, Рыкова Е.Ю.², Чердынцева Н.В.^{1,4}, Бондарь А.А.², Добродеев А.Ю.¹, Завьялов А.А.¹, Тузиков С.А.¹, Меркулова Т.И.⁵, Власов В.В.², Лактионов П.П.²

¹ Томский НИИ онкологии, Томск, Россия

² ИХБФМ СО РАН, Новосибирск, Россия

³ ТПУ, Томск, Россия

⁴ ТГУ, Томск, Россия

⁵ ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия

Анализ фрагментов ДНК, характерных для опухоли, в циркулирующих ДНК крови (цирДНК) является перспективным направлением разработки методов для неинвазивной диагностики и мониторинга рака лёгкого. В настоящей работе был проведён сравнительный анализ уровня метилирования ретро-транспозонов семейства LINE-1 в цирДНК крови 21 больного раком лёгкого (РЛ) до лечения и 23 здоровых доноров. ЦирДНК выделяли из плазмы и фракции цирДНК, связанной с поверхностью клеток крови (скп-цирДНК), которую получили последовательной обработкой клеток фосфатным буфером и раствором трипсина. Концентрацию метилированных фрагментов LINE-1 района 1 (LINE met) определяли методом количественной метил-специфичной ПЦР с использованием TaqMan зонда. Для нормирования данных по метилированию оценивали концентрацию всех фрагментов LINE-1 района 2 (LINE Ind) методом количественной ПЦР с красителем EvaGreen. Выявлена тенденция снижения концентрации метилированных фрагментов LINE met (в 1,4 раза) в связанной с клетками фракции цирДНК крови у больных РЛ (критерий Манна–Уитни, $p = 0,16$). Оказалось, что в группе больных РЛ концентрация всех фрагментов LINE Ind, которая не зависит от статуса метилирования, ниже в 3 раза относительно здоровых доноров. Поэтому в скп-цирДНК крови при РЛ вместе с ожидаемым снижением общей концентрации LINE met выявлено неожиданное увеличение их относительной концентрации (LINE met/LINE Ind) за счёт значительного снижения общего количества LINE Ind. Согласно данным ROC-анализа оценка индекса метилирования LINE-1 повторов в скп-цирДНК фракции позволяет с чувствительностью 78% и специфичностью 80% диагностировать больных РЛ. Полученные результаты подтверждают наши более ранние данные о том, что фрак-

ция скп-цирДНК является высокоинформативным источником материала для диагностики рака лёгкого.

Работа поддержана Программой фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные исследования для разработки биомедицинских технологий» на 2014–2016 гг. (ФИМТ-2014-208), и в рамках программы «Постдок в ТПУ».

Экзомное секвенирование для молекулярной диагностики наследственной потери слуха

Посух О.Л.^{1,2}

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, г.Новосибирск, Россия

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, г.Новосибирск, Россия
e-mail: posukh@bionet.nsc.ru

Потеря слуха, обусловленная средовыми и(или) генетическими причинами, затрагивает значительную часть населения, приводит к инвалидности и существенно снижает качество жизни больных. Генетические формы потери слуха в настоящее время не поддаются лечению и основными задачами являются разработка наиболее эффективных методов молекулярной диагностики и принятие своевременных мер социальной реабилитации глухих людей. Генетический контроль наиболее часто встречающейся несиндромальной нейросенсорной тугоухости/глухоты (ННТ) характеризуется экстремально высокой гетерогенностью: уже известно ~140 генетических локусов и более 90 генов, ассоциированных с ННТ, что обуславливает сложности разработки универсальной молекулярной диагностики этой патологии. Только в немногих лабораториях мира осуществляется молекулярная диагностика нескольких наиболее значимых «генов глухоты», и во многих случаях генетические причины потери слуха остаются неясными. Последовательное секвенирование по Сэнгеру множества генов, контролирующих ННТ, весьма проблематично в отношении временных и материальных затрат. В последнее время, в качестве наиболее адекватной диагностической методологии применяются новейшие технологии секвенирования ДНК, включая экзомное секвенирование, которые позволяют не только выявлять описанные ранее и новые мутации в уже известных «генах глухоты», но и осуществлять поиск новых генов, ассоциированных с патологией слуховой функции. Кроме того, разработаны определённые подходы (стратегии), позволяющие наиболее эффективно выявлять патогенетические варианты анализируемых последовательностей генов в зависимости от характера наследования патологии в семье и доступности её членов для обследования. Впервые в России, нашим коллективом был использован метод полногеномного экзомного секвенирования (whole exome sequencing, WES) что позволило выявить генетические причины потери слуха в нескольких алтайских семьях (Республика Алтай) с рецессивно наследуемой глухотой неясной этиологии.

Работа выполнена в рамках базового бюджетного проекта №VI.58.1.1., при частичной финансовой поддержке гранта №2.1. Программы Президиума РАН «Фундаментальные исследования для разработки биомедицинских технологий».

Анализ экспансии тандемных CAG- и CCG-повторов при болезни Гентингтона в российской популяции

Приходько Д.А., Абрамычева Н.Ю., Степанова М.С., Ключников С.А.

ФГБНУ «Научный Центр Неврологии», 125367, Москва, Волоколамское ш., д.80
dmitry2910@gmail.com

Болезнь Гентингтона (БГ) — одно из наиболее распространённых аутосомно-доминантных нейродегенеративных заболеваний, причиной развития которого является экспансия три-нуклеотидных цитозин-аденин-гуаниновых (CAG) повторов свы-

ше 39 копий в гене *HTT* (локус 4p16.3). Прилежащий к CAG-тракту участок CCG-повторов также является полиморфным и, возможно, оказывает влияние на фенотип заболевания.

Целью исследования было изучение структуры участка гена *HTT*, содержащего микросателлитные CAG- и CCG-повторы, с целью определения клинической значимости полиморфизмов, прилежащих к области CAG-тракта.

Проведён анализ образцов ДНК 355 симптомных больных с БГ и доклинических носителей гена из группы риска в возрасте от 12 до 72 лет из 270 российских семей. Типирование экспансии тандемных CAG- и CCG-повторов в гене *HTT* проводилось методом фрагментного анализа, праймеры были подобраны с помощью программы «Primer3». Флуоресцентно меченный ПЦР-продукт анализировали на генетическом анализаторе ABI Prism 3130 (Applied Biosystems/HTASNI), используя размерный стандарт Liz 500, с помощью программного обеспечения Data Collection Software v3.0, результаты обрабатывали при помощи программы GeneMapper v.4.0 (Applied Biosystems).

Количество CAG-повторов в мутантных хромосомах варьировало в пределах от 37 до 81 (ср. $43,9 \pm 4,8$). У 318 пациентов и доклинических носителей мутантного гена (89,6%) количество CAG-повторов составляло 40-50. В CCG-тракте преобладал аллельный вариант с 7 повторами ($7,0 \pm 0,99$), обнаруженный в 291 образце ДНК (81,9%). В «здоровых» хромосомах такой аллель встречался в 194 случаях (54,6%), следующим по частоте оказался вариант с 10 повторами, который был обнаружен в 101 образце ДНК (28,5%). Таким образом, было выявлено значительное неравновесное сцепление аллеля (CCG)7 с мутантным геном *HTT* в российской популяции, что соотносится с данными западноевропейских исследователей и может быть объяснено фактом преобладающей распространённости БГ среди европеоидной расы по сравнению с другими этническими группами. Выявлено также наличие большого количества минорных аллельных вариантов CCG-полиморфизма: например, аллель (CCG)10, характерный для пациентов с БГ в азиатских популяциях, был обнаружен в шести случаях. В целом было выявлено 9 различных вариантов CCG-полиморфизма (от 4 до 12 повторов), что объясняется значительной гетерогенностью российской популяции.

Работа поддержана грантом РФФИ №13-04-01718А.

Проблемы репродукции и структурные аномалии хромосом. Мозаицизм по структурным перестройкам аутосом

Прозорова М.В.¹, Пантова И.Г.¹, Хитрикова Л.Е.¹, Шандлоренко С.К.¹, Ковалева Н.В.²

¹ СПб ГКУЗ «Диагностический центр (медико-генетический)», 194044, Санкт-Петербург, ул. Тобольская, д.5
mvprozorova@mail.ru

² ФГБУ «Научно-исследовательский детский ортопедический институт им. Г.И. Турнера» Минздрава России

Случаи мозаицизма (М) по структурной перестройке хромосом очень редки, поэтому эпидемиология таких нарушений не разработана. Проблема гонадного мозаицизма часто усугубляется его неочевидностью вследствие отсутствия аномальных клеток в крови. Диагностика мозаицизма в клетках крови без подтверждения его наличия в герминативных тканях при бесплодии (Б) и привычном невынашивании (ПН) предполагает носительство гонадного мозаицизма, при этом информация о том, кто из партнеров является носителем, облегчает медико-генетическое консультирование.

По данным цитогенетической лаборатории Медико-генетического центра, среди 594 мужчин и их 590 партнёров, направленных на цитогенетическую диагностику по поводу Б, носители М не обнаружены. Среди 3736 пациенток с ПН и 3390 их партнёров обнаружены двое носителей М.

Пациентка Г. 36 лет, обследована по поводу спонтанного прерывания трёх беременностей на сроках 12–19 нед. и замершей беременности 16–18 нед. Карิโอтип 45,XX,der(13;14)[40]/ 46,XX[5]. У плода отмечены пороки развития.

Пациент Н. 30 лет, обследован по поводу ПН у жены. Первая беременность двойней завершилась на 11 нед. спонтанным аборт, вторая и третья беременности — спонтанным аборт на 6 нед. Карิโอтип пациента 46,XY,t(6;18)(p10;q10)[23]/46,XY[9]. При последующей беременности на сроке 13–14 нед. маркеры хромосомной патологии плода не обнаружены. От пренатальной диагностики родители отказались.

Метаанализ собственных данных и данных литературы показал, что у пациентов с Б частота М по сбалансированной транслокации составляет 0,15% (5/32782). У пациентов с ПН частота М по сбалансированной перестройке составляет 0,25% (9/36148), что коррелирует с более высокой частотой структурных перестроек в этой группе по сравнению с группой с Б. М по несбалансированной перестройке обнаружен у одного из 68 930 обследованных. Эти данные позволяют приблизительно судить о частоте бессимптомных носителей М в популяции. Известно, что проблемы репродукции испытывают 15–20% населения. Зная долю населения репродуктивного возраста в исследуемой популяции, долю лиц с проблемами репродукции и частоту исследуемой хромосомной аномалии в этой группе, можно получить основную эпидемиологическую характеристику аномалии — популяционную частоту.

Новорождённая с делецией короткого плеча хромосомы 18 и клинико-рентгенологической картиной синдрома каудальной регрессии

Прокофьева А.Д.¹, Хитрикова Л.Е.¹, Сорокина И.С.², Трубина Н.В.², Сорокина М.Д.², Голубева М.В.²

¹ СПГКУЗ «Диагностический центр (медико-генетический)», Санкт-Петербург, Тобольская, 5;
petergen@yandex.ru

² Детская городская больница №1, Санкт-Петербург, Авангардная ул., 14

Пробанд от 1-й беременности, первых родов в 39–40 недель путём экстренного кесарева сечения, при рождении длина тела — 45 см, масса тела — 2770 г, окружность головы — 34 см. Клинические: суженный лоб, низковато расположенные ушные раковины с крупными приросшими мочками; гиперплазия верхней челюсти, гипоплазия нижней челюсти, расщелина твёрдого и мягкого нёба; западающая переносица; аномальная дерматоглифика; гипоплазия стоп, камптодактилия первого пальца левой стопы, проксимальное расположение первого пальца с перекрытием второго пальца на правой стопе, общий корень второго—четвёртого пальцев на обеих стопах. Наружные гениталии по женскому типу. Нарушение функции тазовых органов (неудержание мочи и кала). По данным УЗИ внутренних органов: минимальное открытое овальное окно, открытый артериальный проток; небольшая гепатомегалия; кистозная дисплазия правой почки, мочекишечный инфаркт. По данным рентгенологического исследования: в шейном отделе позвоночника выпрямлен лордоз, имеется тенденция к кифозу, аплазия тела четвёртого позвонка; в грудном отделе выпрямлен физиологический кифоз; тораколизация первого поясничного позвонка; в поясничном отделе имеется кифотическая деформация на уровне третьего—четвёртого позвонков с образованием клиновидности; имеется аплазия крестцово-копчикового отдела, сближение подвздошных костей с уменьшением объёма тазового кольца; ротация седалищной кости справа; вертлужные впадины чётко не дифференцируются, уплощены верхние края крыш; проекционно метафизарные пластины центрируются на Y-образные хрящи; ацетабулярный индекс — до 40°. По данным МРТ, имеется сочетанный порок развития позвоночника и спинного мозга: аплазия крестца и копчика, утолщение терминальной нити с признаками фиксации спинного мозга; липома позвоночного канала. Карิโอтип:

46,XX,del(18)(p11.2). Случай интересен необычным сочетанием данной хромосомной аномалии и известного фенотипа, не связанных друг с другом, по данным литературы.

Исследование молекулярно-генетических основ рака яичников в Республике Башкортостан

Прокофьева Д.С.¹, Фаузетдинова Э.С.¹, Романова А.Р.¹, Нургалеева А.Х.¹, Хуснутдинова Э.К.^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение Башкирский государственный университет, г.Уфа, ул. Заки Валиди 32

² Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, г.Уфа, просп. Октября, 71 dager-glaid@yandex.ru

В России ежегодно выявляют более 12 тыс. случаев заболевания раком яичников (РЯ). В первую очередь, развитие РЯ ассоциировано с мажорными мутациями в высокопенетрантных генах *BRCA1/2*, однако они объясняют не более 15% всех случаев патологии.

Цель исследования — изучение генетических факторов риска развития рака яичников у женщин из Республики Башкортостан (РБ).

В исследовании проведён скрининг мутаций в генах *BRCA1* (с.5266dupC, с.4034delA, с.181T>G), *BRCA2* (с.5946delT), *CHEK2* (*CHEK2*del9,10(5kb), с.444+1G>A, с.1100delC и с.470T>C), *NBN* (с.657del5), *ATM* (с.5932G>T), *BLM* (р.Q548X) и поиск изменений нуклеотидной последовательности в гене *PALB2* у больных РЯ (n = 253) и здоровых женщин (n = 374). Проанализированы 10 экзонов гена *RAD51D* у пациенток с семейной формой заболевания (n = 15). В работе использованы современные методы молекулярно-генетического анализа.

В результате скрининга мутаций в гене *BRCA1* выявлена дупликация с.5266dupC с частотой 5,3% у пациенток разного этнического происхождения (русские, татары, башкиры и украинцы). Мутация ассоциирована с высоким риском развития РЯ, OR: 10.3, 95% CI (2,3—46,0), p = 0,0005. Также в гене *BRCA1* с частотой 1,2% обнаружена замена с.181T>G. В гене *CHEK2* у женщин с РЯ русской и татарской этнической принадлежности идентифицированы мутации *del9,10(5kb)* (0,8%) и *p.R145W* (0,8%). Изменения с.4034delA (*BRCA1*), с.5946delT (*BRCA2*), с.5932G>T (*ATM*), с.657del5 (*NBN*) и *p.Q548X* (*BLM*) у больных РЯ и в контроле не выявлены. В гене *PALB2* у пациенток с низкой частотой (0,4%) обнаружена мутация с.172_175delTTGT и впервые идентифицирован полиморфный вариант с.26T>A (0,4%). В гене *RAD51D* у женщин с семейной формой заболевания идентифицированы нейтральные полиморфные варианты rs9901455 (20%) и rs4796033 (13,3%). Мутаций не выявлено.

В целом, 8,5% случаев рака яичников в Республике Башкортостан мы можем объяснить наличием одной из изученных мутаций в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* и *PALB2*.

Особенности профилей экспрессии 20 микроРНК при раке почки

Пронина И.В.^{1,2}, Логинов В.И.^{1,2}, Бурденный А.М.², Фридман М.В.³, Казубская Т.П.⁴, Колпаков А.В.⁴, Кушлинский Н.Е.⁴, Карпунин А.В.¹, Брага Э.А.^{1,2}

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», 115478, Москва, ул.Москворечье, д. 1

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», 125315, Москва

³ ФГБНУ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, 117971, Москва

⁴ ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина», 115478, Москва

К совокупности эпигенетических механизмов относится подавление экспрессии генов под воздействием регуляторных микроРНК, связывающихся с 3'-нетранслируемым участком матричной РНК гена-мишени. Исследовано изменение содержания 20 микроРНК (miR-124a, -125b, -127, -129, -132, -137, -148a, -17, -191, -193-5p, -203, -212, -219, -24-2, -339-3p, -34a, -34b, -34c-3p, -375, -9) в парных образцах светлоклеточного почечноклеточного рака (скПКР) методом количественной ПЦР в реальном времени с применением лицензионных наборов фирмы Applied Biosystems: Taq Man MicroRNA Reverse Transcription Kit и Taq Man MicroRNA Assays Kit (США). В качестве контрольного гена использовали мРНК гена *RNU6*. Показано, что при скПКР доминировало значимое снижение содержания каждой из 20 исследованных микроРНК. Только две микроРНК проявили единичные случаи повышения экспрессии наряду с более частым снижением, а именно: miR-203 (повышение в 26 раз) и miR-9 (до 161 раза). Максимальное по амплитуде и наиболее частое снижение выявлено у miR-129 (до 350 раз, в 86% случаев), miR-375 (до 265 раз, в 80%), miR-34b (63 раза, 79%), miR-124a (200 раз, 60%), miR-127 (50 раз, 50%), miR-125b (50 раз, 50%) и miR-34c-3p (24 раза, 50%). Систему из этих 7 микроРНК можно использовать для выявления скПКР с высокой чувствительностью. Полученные результаты сопоставлены с нашими данными по изменению экспрессии ряда опухоль-ассоциированных генов хромосомы 3, предсказанных как мишени согласно miRWalk (<http://zmf.umm.uni-heidelberg.de/apps/zmf/mirwalk2/index.html>), что позволило выявить обратные зависимости между изменениями уровней экспрессии в некоторых парах микроРНК — ген-мишень. На основании найденных корреляций можно предполагать существование прямых взаимодействий, например, между мРНК *RASSF1A* и miR-129, miR-9 и miR-148a, что важно для анализа регуляторных сетей и для поиска новых генов-мишеней и лекарственных средств в таргетной терапии скПКР.

Работа выполнена при поддержке грантом РФФИ 13-04-00828.

Биохимические маркёры при болезни Ниманна—Пика типа С

Прошлякова Т.Ю.¹, Михайлова С.В.², Байдакова Г.В.¹, Ильина Е.С.², Руденская Г.Е.¹, Клюшников С.А.³, Булатникова М.А.⁴, Захарова Е.Ю.¹

¹ ФГБНУ Медико-генетический научный центр, 115478, Москва, ул. Москворечье, д.1, t.proshlyakova@mail.ru

² ФГБУ Российская детская клиническая больница Минздрава России,

117513, Москва, Ленинский пр-т, д 117

³ ФГБНУ Научный центр неврологии, 105064, Москва, улица Обуха д.5, стр.1

⁴ Медицинский центр Покровский, 199166, Санкт-Петербург, Большой пр. В.О., д. 85

Болезнь Ниманна—Пика тип С (НПС) — наследственное аутосомно-рецессивное прогрессирующее заболевание нервной системы из группы лизосомных болезней накопления. Для НПС пока не описаны биохимические маркёры, которые могли бы существенно упростить процедуру постановки диагноза, хотя в литературе появляется все больше данных о возможности использования различных маркёров для селективного скрининга на данное заболевание. Цель исследования — оценка информативности биохимических маркёров хитотриозидазы и оксистеролов (холестан-3,5,6-триола и 7-кетостерола) при болезни НПС.

Для биохимического анализа использовалась плазма крови пациентов. В исследование включены 49 больных: 7 — с установленным диагнозом НПС, 8 — с сомнительным результатом (1 замена в гетерозиготном состоянии), 4 — с установленным

другим диагнозом (Gm1-ганглиозидоз, синдром Алажиля, синдром Ли, синдром Кернс—Сейера) и 30 пациентов с неизвестным диагнозом, но исключённым молекулярными методами НПС.

Концентрация оксистеролов. Повышенный показатель был обнаружен у 100% пациентов с диагнозом НПС (7/7), у 0% (0/8) — с сомнительным результатом, у 0% (0/4) — других диагнозов и у 20% (6/30) с исключённым НПС. Статистически достоверные различия между 4 исследованными группами обнаружались только с болезнью НПС ($p < 0,05$). Показатели концентрации оксистеролов у этих пациентов достоверно отличаются от всех остальных групп пациентов. Чувствительность теста составила 100% (ДИ 95% 60—100), специфичность — 82% (ДИ 95% 74—82), положительная прогностическая ценность — 53% (ДИ 95% 32—53), отрицательная прогностическая ценность — 100% (ДИ 95% 90—100).

Активность хитотриозидазы. Повышенный показатель был обнаружен у 86% пациентов с диагнозом НПС (6/7), у 0% (0/8) — с сомнительным результатом, у 25% (1/4) — с другими диагнозами и у 17% (5/30) с исключённым НПС. Статистически достоверные различия между четырьмя исследованными группами обнаружались между болезнью НПС, сомнительным результатом и исключённым диагнозом НПС ($p < 0,05$). Показатели активности хитотриозидазы у больных НПС и установленных других диагнозов достоверно не отличаются. Чувствительность теста — 85% (ДИ 95% 45—99), специфичность теста — 82% (ДИ 95% 74—85), положительная прогностическая ценность — 50% (ДИ 95% 26—57), отрицательная прогностическая ценность — 96% (ДИ 95% 86—99).

Активность хитотриозидазы и концентрация оксистеролов — два биохимических маркера, определение которых может значительно ускорить постановку диагноза НПС.

Мутации в генах лизосомных болезней накопления — фактор высокого риска развития болезни Паркинсона: возможные молекулярные механизмы

Пчелина С.Н.

*Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова
НИЦ «Курчатовский институт», Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова*

Болезнь Паркинсона (БП) — хроническое прогрессирующее заболевание, связанное с агрегацией нейронального белка альфа-синуклеина и развитием нейродегенерации. В последнее время накапливается все больше фактов, свидетельствующих об общности молекулярных механизмов БП и редких наследственных заболеваний, относящихся к классу лизосомных болезней накопления (ЛБН), связанных с дисфункцией лизосом. Нами и зарубежными авторами показан высокий риск развития БП у носителей мутаций в гене *GBA*. Риск развития БП с началом до 50 лет у носителей мутаций L444P и N370S *GBA* возрастает до 15 раз. В то же время известно, что мутации в гене *GBA* в гомозиготном состоянии являются причиной развития болезни Гоше, наиболее распространённого заболевания из наследственных болезней, относящихся к классу ЛБН.

Нами впервые показано, что такой высокий риск развития БП при дисфункции лизосомного фермента *GBA* может быть обусловлено формированием повышенного уровня олигомерных форм альфа-синуклеина. Выявленное нами повышение олигомерных форм альфа-синуклеина в плазме крови у пациентов с различными ЛБН (болезнью Гоше, болезнью Вольмана, болезнью Краббе), позволило предположить, что нарушения активности и других лизосомных ферментов может приводить к увеличению уровня нейротоксичных форм альфа-синуклеина. Нами была впервые описана обратная корреляция уровня альфа-синуклеина плазмы крови с активностью *GBA* лимфоцитов крови у пациентов с болезнью Гоше, а также выявлено снижение уровня олигомерных форм альфа-синуклеина плазмы крови в зависимости от длительности ферментозаме-

стительной терапии. Полученные результаты позволили предположить молекулярный механизм повышения риска развития БП у носителей мутаций в гене *GBA*, а также обсуждать перспективы терапии *GBA*-ассоциированной формы БП.

Исследование поддержано грантами РФФИ №13-04-01510; №14-04-31665.

Анализ спектра и частоты *GJB2*-мутаций у пациентов с врождёнными нарушениями слуха в Республике Саха (Якутия)

Пшеникова В.Г.^{1,2}, Барашков Н.А.^{1,2}, Терютин Ф.М.^{1,2}, Соловьев А.В.², Кларов Л.А.³, Романов Г.П.², Готовцев Н.Н.², Саввинова К.Е.², Кожевников А.А.³, Сидорова О.Г.⁴, Васильева Л.М.⁵, Федотова Э.Е.⁵, Морозов И.В.^{6,9}, Бондарь А.А.⁶, Соловьева Н.А.^{1,2}, Кононова С.К.^{1,2}, Рафаилов А.М.², Сазонов Н.Н.², Алексеев А.Н.⁷, Посух О.Л.^{8,9}, Джемилева Л.У.¹⁰, Хуснутдинова Э.К.^{10,11}, Федорова С.А.^{1,2}

¹ ФГБНУ «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем», г. Якутск

E-mail: psennikovavera@mail.ru

² ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», г. Якутск

³ ГБУ РС(Я) «Республиканская больница №2 — Центр экстренной медицинской помощи», г. Якутск

⁴ ГБУ РС(Я) «Медицинский Центр г. Якутска», г. Якутск

⁵ ГБУ РС(Я) «Республиканская больница №1 — НИМ», г. Якутск

⁶ ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск

⁷ ФГБУН Институт гуманитарных исследований и проблем малочисленных народов Севера СО РАН, г. Якутск

⁸ ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

⁹ ФГБОУ ВПО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», г. Новосибирск

¹⁰ ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, г. Уфа

¹¹ ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», г. Уфа

Мутации в гене *GJB2* (Cx26) признаны основной причиной врождённых нарушений слуха. В гене *GJB2* известно более 150 аллельных вариантов, спектр и частота которых существенно отличается в различных этнических группах [Chan et al., 2014]. До настоящего времени территория Восточной Сибири (Якутия) полностью не была охарактеризована по спектру и частоте мутаций гена *GJB2*. Впервые проведено полное ресеквенирование промоторной и кодирующей областей гена *GJB2* у 393 пациентов с врождёнными нарушениями слуха и 187 индивидов с нормальным слухом. Всего было выявлено 13 аллельных вариантов гена *GJB2*, из которых 8 являются мутантными, 5 — полиморфными или пока неклассифицированными вариантами. Среди пациентов ($n = 393$) наиболее распространены три мутации: с.-23+1G>A, с.35delG и с.109G>A, причём для пациентов якутов, наиболее частой оказалась мутация с.-23+1G>A (94,17% всех мутантных хромосом), а для русских пациентов — с.35delG (73,07% всех мутантных хромосом). В целом, у пациентов был выявлен 21 различный *GJB2*-генотип, из которых 10 были с двумя рецессивными мутациями. Вклад мутаций гена *GJB2* в этиологию потери слуха у населения Якутии — 45,55%, является максимальным среди всех ранее изученных регионов Азии. Средняя распространённость потери слуха обусловленной двумя рецессивными *GJB2*-мутациями в Якутии составила $2,00 \pm 0,14$ на 10 000 населения, с локальными «очагами накопления» в Нюрбинском ($9,50 \pm 1,94$ на 10 000) и Чурапчинском ($7,84 \pm 1,96$ на 10 000) районах.

Работа поддержана грантами РФФИ (14-04-01741 а), (15-44-05106-р_восток а), (14-04-9010 Бел А), ГК №6.656.2014/К и интеграционным проектом СО РАН №92.

Генетические полиморфизмы у пациентов с асимптомным атеросклерозом брахиоцефальных артерий

Раскуражев А.А., Танамян М.М., Иллариошкин С.Н., Абрамычева Н.Ю., Лагода О.В., Хамидова З.М.

ФГБНУ Научный центр неврологии,
Москва, Волоколамское ш., д.80
e-mail: raskey@live.com

Генетические механизмы играют важную, однако неоднозначную роль в развитии атеросклероза.

Целью настоящей работы стала идентификация потенциальных генов-кандидатов атеросклероза брахиоцефальных артерий у клинически асимптомных пациентов.

Группа исследования включала 98 «асимптомных» пациентов (средний возраст 65,7 года, из которых 59% (n = 58) составляли мужчины) с 50% или более стенозом одной из внутренних сонных артерий (подтверждённым при дуплексном сканировании). В группу контроля вошёл 191 здоровый испытуемый, сопоставимые по полу. Методом полимеразной цепной реакции в режиме «real-time» проводилось определение следующих однонуклеотидных полиморфизмов (SNP): *MTHFR* (C677T, A1298C), *PON-1* (Gln192Arg), *SELP* (Thr715Pro), *PAI-1* (5G/4G), *SERPINA-1* (G1096A), *AQP9* (G435C), *BRAP* (T270C).

Гетерозиготный вариант *MTHFR* A1298C наблюдался чаще в группе исследования по сравнению с контрольной группой (49,0% vs 34,7% соответственно, p = 0,0441). Распределение мутантного аллеля в гене *SELP* было выше в группе контроля (35,2% vs 22,0%, p = 0,0385), что может указывать на его антиатерогенное действие. Гомозиготный «мутантный» вариант гена *PAI-1* 4G/4G чаще встречался в группе контроля по сравнению с группой исследования (40,2% vs 26,7%, p = 0,023). SNP G1096A гена *SERPINA-1* достаточно редкий: он был идентифицирован у трёх пациентов с атеросклерозом (причём в одном случае — гомозиготная мутантная форма) и у двух пациентов в группе контроля. Полиморфизм гена аквапорина-9 наблюдался в 6% случаев в группе исследования и в одном проценте — в группе контроля. Распределение вариантов гена *PON-1* не различалось между группами. Ни в одной группе не было идентифицировано носительство мутации в гене *BRAP*.

Указанные полиморфизмы генов играют достаточно противоречивую роль в атерогенезе. Создание «генетического профиля» пациента с сосудистой патологией головного мозга может стать эффективной диагностической модальностью, однако необходимы дальнейшие исследования.

Полиморфизм генов системы гемостаза у женщин с нарушенной репродуктивной функцией в Ивановской области

Ратникова С.Ю., Конева Т.Г., Виноградова Т.Ю., Котлова И.С., Жукова Т.П., Зайцева Е.С., Фетисов Н.С., Гордеева А.В., Фетисова И.Н.

ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» МЗ РФ
153045, г.Иваново, ул. Победы, 20
svet.mt@mail.ru

С 2010 г. в лаборатории межрегиональной медико-генетической консультации (МГК) Ивановского НИИ материнства и детства внедрено тестирование генов системы гемостаза методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (*FV* G1691A, *FII* G20210A, *MTHFR* C677T, *MTHFR* A1298C, *MTRR* A66G, *MTR* A2756G, *PAI-1* -675 5G/4G, *ACE* I/D, *FGB* C1643T, *GpIIIa* T1565C). За период с октября 2010 г.

по декабрь 2014 г. было обследовано 4325 пациенток (45 тыс. исследований), обратившихся за консультацией в МГК по поводу нарушения репродуктивной функции (НРФ): бесплодия, невынашивания беременности, осложнённого течения беременности, неудачных исходов процедуры экстракорпорального оплодотворения. Согласно результатам исследования, гетерозиготное носительство Лейденской мутации гена V фактора (*FV* Leiden) у женщин с НРФ в популяции Ивановской области было отмечено в 5%; гомозиготные генотипы по указанной мутации выявлены не были. В гене протромбина также было диагностировано лишь гетерозиготное носительство мутантного аллеля (3% обследованных). Следует отметить, что доминантный характер наследования варианта *FII* 20210A определяет повышенную экспрессию гена и, как следствие, усиленную продукцию протромбина, и в гомо- и гетерозиготном состоянии, и, следовательно, может расцениваться как фактор риска повышенного тромбообразования. Обращает внимание факт высокой частоты присутствия в генотипе у пациенток с НРФ низкофункциональных аллелей в генах фолатного цикла *MTHFR* 677T (47%) и *MTRR* 66G (83%), а также негативного аллеля в гене серпина (у 79% обследованных, причём у трети пациенток имел место генотип *PAI-1* -675 4G/4G). Высокая частота выявляемости неблагоприятных полиморфизмов генов системы гемостаза у лиц с НРФ авторам представляется неслучайной и обусловлена, вероятно, контингентом обследованных лиц, у которых нарушение фертильности в ряде случаев и связано с нарушением свёртывающей, противосвёртывающей и фибринолитической систем организма.

Генетическое влияние отходов горно-обогатительного комбината на население

Реутова Н.В.^{1,2}, Дреева Ф.Р.^{1,2}, Реутова Т.В.^{1,2}, Шевченко А.А.¹

¹ Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова
360004, КБР, г.Нальчик, ул. Чернышевского, 173
² Кабардино-Балкарский научный центр РАН
360002, КБР, г.Нальчик, ул. Балкарова, 2
reutova371@mail.ru

Предприятия цветной металлургии представляют особую опасность, так как загрязняют окружающую среду тяжёлыми металлами, которые практически не выводятся из биогеоценозов. Даже после прекращения работы этих предприятий, отходы, накопленные в результате их деятельности, ещё неопределённо длительное время могут представлять угрозу для населения, проживающего на прилегающих территориях, причём особую проблему будет представлять их генотоксическое влияние.

Уже на протяжении 15 лет нами проводится изучение влияния Тырныаузского горно-обогатительного комбината на население, проживающее в районе его расположения. Комбинат был запущен в эксплуатацию в 1961 г. За время его деятельности в отвалах накопилось 253 млн тонн отходов, в хвостохранилище обогатительной фабрики комбината площадью 170 га сосредоточено свыше 125 млн т отходов второго класса опасности, содержащих мышьяк, вольфрам, молибден и другие металлы.

В результате проведённых исследований было выявлено, что в районе расположения комбината не повышена заболеваемость населения, нет превышения частоты заболеваний ни по одной из нозологий, в том числе и по онкологическим заболеваниям. Но, вместе с тем, была повышена частота спонтанных аборт, что говорит о наличии генетического влияния.

С 2001 г. комбинат прекратил свою работу, на его хвостохранилище завершена рекультивация. С целью изучения возможного генетического влияния захороненных отходов на население в настоящее время нами было проведено обследование

детей младшего школьного возраста, проживающих в непосредственной близости от хвостохранилищ, с использованием полиорганный микроядерного теста. Мы исследовали цитогенетические показатели клеток букального эпителия. Выявлено, что общее число клеток с цитогенетическими нарушениями у этих детей в 4,1 раза превысило показатели чистой зоны, что говорит о наличии мутагенного влияния данного типа загрязнений. Также было выявлено усиление пролиферации клеток, что говорит о наличии и токсического влияния.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда. Соглашение №14-17-00474 от 01.07.2014 г.

Молекулярно-генетические аспекты синдрома Марфана

Рогожина Ю.А., Румянцева В.А., Заклязьминская Е.В.

*Российский научный центр хирургии им. академика Б.В. Петровского
Москва, Абрикосовский пер., д.2
julia.rogozhina@gmail.com*

Синдром Марфана — наследственная патология соединительной ткани. У большинства пациентов обнаруживается мутация в гене *FBNI*, состоящим из 65 кодирующих экзонов. В связи с большим размером гена и отсутствием «горячих» участков диагностика СМ затруднена. Целью нашей работы была оптимизация диагностики СМ.

Поиск мутаций во всех экзонах *FBNI* был проведён 10 больным, у 19 пациентов был исследован только кластер из 9 экзонов (24—32). У всех пациентов полностью выполнялись диагностические критерии синдрома Марфана. Молекулярно-генетический анализ полной последовательности гена проводился с помощью NGS (приготовление геномных библиотек из ампликонов) с проверкой найденных замен путём прямого секвенирования по Сенгеру. Исследовались кодирующие участки и прилегающие интронные области гена *FBNI*. Все генетические варианты проанализированы с помощью ресурсов NetGene2, PolyPhen2 и Sift.

При исследовании девяти экзонов *FBNI* миссенс-мутации обнаружены у 3 пациентов из 19 (р.С921R, р.С950S, р.И1048T). При исследовании полной последовательности значимые генетические изменения найдены у 7 пациентов из 10. При этом у 3 обнаружены стоп-кодоны (р.Y181*, р.R516*, р.G1811*); у 1 пациента — сдвиг рамки считывания с преждевременным появлением стоп-кодона в экзоне 9 (с.661delT). Также обнаружены 3 новые несинонимичные замены (р.С2468R, р.С739W, р.С1095S), оцениваемые биоинформатическими ресурсами как повреждающие структуру белка.

Диагностическая система, основанная на исследовании только девяти экзонов, не обладает достаточной эффективностью, и мы считаем целесообразным проводить анализ всего гена методом секвенирования нового поколения.

Связь полиморфных аллелей гена *COMT* с риском развития гестоза у белорусских женщин

Родькин М.С., Сивицкая Л.Н.

*ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»
Республика Беларусь, г. Минск, Академическая, 27
maxim111290@inbox.ru*

Гестоз представляет собой серьёзное осложнение, возникающее у беременных женщин после 20-недельного срока гестации, а также при родах.

Особый интерес при изучении патогенеза представляет ген фермента катехол-О-метилтрансферазы (СОМТ). Данный фермент отвечает за синтез 2-метоксистероидов (2-МЭ) — соединения, способного ингибировать гипоксия-индуцибельный фактор 1α (HIF-1α), а также регулировать инвазию цитотро-

фобласта. Таким образом, 2-МЭ вовлечен в развитие нарушений, сопутствующих гестозу. С величиной активности фермента, кодируемого геном *COMT*, связывают 4 однонуклеотидных полиморфизма: rs6269, rs4680, rs4633 и rs4818.

Для исследования были сформированы 2 группы беременных женщин (страдающих гестозом — 103 чел. и здоровых — 62 чел.), образцы которых поступили из городского клинического родильного дома №2 и РНПЦ «Мать и дитя» г. Минска. Молекулярно-генетический анализ проводили при помощи метода ПЦР-ПДРФ.

Статистически значимых различий между частотами генотипов в сравниваемых группах не выявлено. Однако среди здоровых женщин доля протективного генотипа АА в локусе *Val158Met* (rs4680) была на 14,6% больше, чем у пациенток (p>0,05). Представленные полиморфизмы гена *COMT* образуют несколько гаплотипов, ассоциированных с активностью этого фермента. Несмотря на то, что прослеживалась тенденция к увеличению доли носителей гаплотипа GCGG (rs6269, rs4633, rs4818 и rs4680 соответственно) (повышенная активность СОМТ) среди здоровых женщин и гаплотипа ACCG (пониженная активность) среди пациенток, частоты гаплотипов в основной и контрольной группах достоверно не различались.

С одной стороны, распределение исследованных генотипов говорит о том, что нуклеотидный состав в четырёх полиморфизмах гена *COMT* не влияет на течение беременности. С другой стороны, для получения однозначных результатов следует увеличить выборку и провести более детальное исследование патогенетической роли полиморфизмов данного гена в процессе формирования гестоза.

Медико-генетическая помощь семьям на современном этапе

Романенко О.П.

*СПб ГКУЗ «Диагностический центр (медико-генетический)»
Санкт-Петербург, ул. Тобольская, д. 5
E-mail: gkdmgenc@zdrav.spb.ru*

В современных социально-экономических условиях назрела необходимость совершенствования методов профилактики, ранней диагностики наследственных и врождённых заболеваний (НВЗ) у плода, новорождённых и детей, что будет способствовать снижению детской инвалидности и летальности. Для достижения поставленных целей необходимо выполнение программ по развитию здравоохранения, утверждённых Правительствами РФ и СПб на период 2015—2020 гг. Программы нацелены на повышение качества и доступности медицинской помощи для населения и оптимизацию выделенных ресурсов.

Организация и оказание медико-генетической помощи (МГП) проводится в соответствии с порядками оказания МГП по нозологиям, включающими организационные аспекты, клинические рекомендации (протоколы) по обследованию и лечению, стандарты медицинской помощи, которые являются нормативными документами. Главным в помощи пациенту является правильно поставленный диагноз. В настоящий момент большие надежды по диагностике возлагаются на молекулярно-генетические методы, особенно на ДНК-технологии. Но если учесть плейотропное действие гена, генетическую гетерогенность, клинический полиморфизм, полиорганный поражения при одной нозологии НВЗ, то без учёта клинических проявлений болезни одно только молекулярно генетическое исследование не принесет ожидаемого результата. На сегодняшний день диагноз НВЗ подтверждается современными лабораторными методами — цитогенетическими, молекулярно-цитогенетическими, биохимическими, молекулярно-генетическими. Причинно-следственные связи болезни могут быть установлены только совместно врачом-клиницистом, врачом-генетиком и врачом-лабораторным генетиком.

МГЦ проводит неонатальный скрининг со 100% охватом новорождённых на ФКУ, ВГ, АГС, МВ, ГАЛ. Ежегодно выявляется 40–45 больных по данным нозологиям. Селективным скринингом на ТМС обследуется 1500–1800 детей до 1 года на 30 нозологий редких (орфанных) заболеваний с выявлением 3–5 больных в год. Все выявленные берутся на учёт и лечение, создаётся региональный регистр. МГК ежегодно получают 22 147 семей, в том числе первичных 12 226 по диагностике ВНЗ, за прогнозом здорового потомства обращается — 20% от первичных семей. 82% беременных женщин обследуются пренатальным скринингом.

Таким образом, медико-генетическая помощь семьям оказывается на современном уровне в полном объёме от потребности.

Частота ассортативных браков среди глухих и слабослышащих людей в Якутии

Романов Г.П.¹, Барашков Н.А.^{1,2}, Терютин Ф.М.^{2,3}, Кларов Л.А.⁴, Николаева Л.А.⁵, Гарюхина О.Н.⁵, Скрабина Е.Д.⁵, Соловьев А.В.¹, Готовцев Н.Н.¹, Пшенинкова В.Г.^{1,2}, Рафаилов А.М.⁶, Саонов Н.Н.⁶, Морозов И.В.^{7,8}, Бондарь А.А.⁷, Алексеев А.Н.¹, Джемилева Л.У.⁹, Хуснутдинова Э.К.^{9,10}, Посух О.Л.^{11,12}, Федорова С.А.^{1,2}

¹ Научно-исследовательская лаборатория молекулярной биологии, Институт естественных наук ФГАОУ ВПО «СВФУ им. М.К. Аммосова», г.Якутск
e-mail: gpromanov@gmail.com

² Лаборатория молекулярной генетики, ФГБНУ «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем», г.Якутск

³ Республиканский центр профессиональной патологии, ГБУ РС(Я) «Республиканская больница №2 — ЦЭМП», г.Якутск

⁴ Отдел лучевой диагностики, ГБУ РС(Я) «Республиканская больница №2 — ЦЭМП», г.Якутск

⁵ Якутское региональное отделение общества инвалидов «Всероссийское общество глухих», г.Якутск

⁶ Кафедра биохимии и биотехнологии, Институт естественных наук, ФГАОУ ВПО «СВФУ им. М.К. Аммосова», г.Якутск

⁷ ЦКП «Геномика», ФГБНУ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г.Новосибирск

⁸ Кафедра молекулярной биологии, Биологическое отделение, Факультет естественных наук, ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, г.Новосибирск

⁹ Лаборатория молекулярной генетики человека, ФГБНУ Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, г.Уфа

¹⁰ Кафедра генетики и фундаментальной медицины, ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», г.Уфа

¹¹ Лаборатория молекулярной генетики человека, ФГБНУ Институт цитологии и генетики СО РАН, г.Новосибирск

¹² Кафедра цитологии и генетики, Факультет естественных наук, ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, г.Новосибирск

Появление общего способа коммуникации — языка жестов (языковая гомогамия) способствовало росту частоты ассортативных браков (АБ), что, вероятно, привело к ослаблению давления отбора по неблагоприятному признаку (глухоте) и повысило репродуктивные возможности глухих людей. Предполагается, что определенные типы АБ между глухими могут выступать в роли механизма, ускоряющего фиксацию «генов глухоты» в популяции (Nance et al., 2004). Показано, что высокая доля АБ среди глухих могла существенно увеличить частоту самой распространённой формы глухоты, определяемой мутациями гена *GJB2* (Cx26), в США за последние 200 лет (Nance et al., 2004; Arnos et al., 2008). У якутов зафиксирована высокая распространённость *GJB2*-ассоциированной глухоты. Кроме того, известно, что в Якутии массовое введение жестового языка в школах для глухих произошло от-

носительно недавно (~60 лет назад). Для прогнозирования распространённости *GJB2*-глухоты в Якутии необходимо изучение структуры браков глухих людей. Проведено анкетирование 121 индивидуума с нарушениями слуха из Республики Саха (Якутия) в возрасте от 25 до 67 лет (средний возраст $44,8 \pm 9,3$ года), состоящих на инвалидности по слуху, для выяснения их семейного положения и числа детей. Было установлено, что 114 из 121 респондентов с нарушениями слуха (94,2%) состояли в браке и/или имели детей, анализ структуры браков показал, что 107 из них имели брачного партнера с нарушением слуха. Таким образом, частота АБ по глухоте в Якутии составила 93,9% (107/114), что выше по сравнению с США (79,0%), Турцией (46,8%), Монголией (37,5%), Тунисом (10,0–30,0%) и с регионом Варmland Швеции (10,0%). Сравнимую с Якутией частоту АБ по глухоте имеет регион Нарке Швеции (99,0%). Таким образом, в настоящее время в Якутии регистрируется относительно высокая частота АБ среди глухих и слабослышащих людей.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ (15-04-04860_а), (14-04-01741_а), (15-44-05106-р_восток_а), ГК №6.656.2014/К и Интеграционного проекта СО РАН №92.

Новые маркёры аномального метилирования ДНК при остром миелоидном лейкозе у детей

Руденко В.В.¹, Немировченко В.С.², Попа А.В.², Танас А.С.^{1,3}, Казакова С.А.¹, Кузнецова Е.Б.¹, Залетаев Д.В.^{1,3}, Стрельников В.В.^{1,3}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», Москва, 115478, ул. Мокшоречье, д.1
e-mail: Shkarupo@mail.ru

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина», Москва, 115478, Каширское ш., д.24

³ ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава РФ, Москва, 117997, ул. Островитянова, д.1.

Злокачественные новообразования характеризуются молекулярно-генетической гетерогенностью. Мажорные мутации/геномные перестройки описаны не для всех типов опухолей, это затрудняет разработку диагностических и прогностических клинических тестов. В то же время существует класс молекулярно-генетических изменений, присущий всем злокачественным опухолям — это аномальное метилирование геномной ДНК. Цель настоящего исследования — формирование системы маркёров метилирования одного из основных прогностических критериев острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) у детей — минимальной остаточной болезни (МОБ). В исследовании вовлечены образцы биологического материала костного мозга пациентов с ОМЛ. Идентификация аберрантного метилирования проводится с использованием авторского метода непредвзятого скрининга дифференциального метилирования геномов на основе амплификации интерметилированных сайтов. В ходе исследования выявлено 16 новых геномных локусов, аномально метилированных при ОМЛ у детей. 15 принадлежит промоторным CpG-островкам генов, один — межгеному CpG-островку (7p21.1). Два гена, аномальное метилирование которых при детском ОМЛ выявлено в работе, кодируют белки, вовлечённые в процессы эпигенетической регуляции экспрессии: *RXR* и *KHSRP*. Предложена система из 13 маркёров метилирования ДНК, соответствующих промоторным областям генов *EGFLAM*, *RXRA*, *MAFA*, *TMEM176A/TMEM176B*, *KHSRP*, *TMEM200B*, *ABCG4*, *GSG1L*, *CLDN7*, *CXCL14*, *DLK2*, *AIFM3* и *SOX8*, для определения МОБ при детском ОМЛ.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №14-04-32295 мол_а.

Наследственные нейрореметаболитические болезни в юношеском и взрослом возрасте

Руденская Г.Е., Захарова Е.Ю.

ФГБНУ Медико-генетический научный центр (МГНЦ), Москва
rudenskaya@med-gen.ru

Наследственные нейрореметаболитические болезни (НМБ) традиционно связывают с младенческим и детским возрастом: на ранние НМБ преимущественно ориентированы клинико-генетическая диагностика, медико-генетическое консультирование (МГК), разработка новых методов лечения, они шире освещены в литературе. Вместе с тем, существенный вклад в структуру НМБ вносят формы с началом в юношеском и взрослом возрасте. К ним относятся нозологии, для которых такое начало типично (атрофия зрительных нервов Лебера — самая частая митохондриальная болезнь, болезнь Рефсума, часть нейродегенераций с накоплением железа в мозге и др.) и поздние фенотипы НМБ с разным возрастом манифестации (большинство лейкоэнцефалопатий/лейкоэнцефалопатий и митохондриальных болезней, болезни Вильсона, Нимана—Пика С, Фабри, ганглиозидозы, порфирии и др.). В процессе клинико-лабораторной диагностики НМБ и МГК семей нами накоплено значительное число верифицированных наблюдений поздних форм, включая «новые» и особо редкие. Доля поздних фенотипов при отдельных НМБ варьирует от единичных случаев (ганглиозидозы) до 40—50% (адренолейкодистрофия). Причины их формирования тоже различны (полилокусная гетерогенность, как при нейрональных цероид-дифофусцинозах; спектр мутаций, как при метахроматической лейкоэнцефалопатии и болезни Краббе; модификаторы, как пол при атрофии зрительных нервов Лебера; гетероплазмия при ряде митохондриальных болезней) и для многих НМБ не выяснены: при нейродегенерации с накоплением железа в мозге I типа, *POLG*-связанных болезнях, лейкоэнцефалопатии с вовлечением ствола и спинного мозга, болезни Александра гено-фенотипические корреляции не найдены, при адренолейкодистрофии ранние и поздние фенотипы сочетаются внутрисемейно. Большинство поздних НМБ клинически вариабельны, нередко маскируются под рассеянный склероз, паркинсонизм, психические и другие частые болезни. МРТ информативна при многих НМБ (лейкоэнцефалопатии/лейкоэнцефалопатии, нейродегенерации с накоплением железа в мозге), но не при всех. МГК при поздних НМБ имеет отличия от МГК семей с больными детьми. Своевременное выявление ряда поздних НМБ важно для лечения. Наряду с известными методами (хелаты меди при болезни Вильсона, хенодеоксихолевая кислота при церебросухожильном кантоматозе, диета при болезни Рефсума) появились новые виды терапии (миглюстат при болезни Нимана—Пика С), для некоторых НМБ специфичное лечение разрабатывается.

Поиск новых генов подверженности туберкулёзу с использованием результатов полногеномных исследований аутоиммунных заболеваний

Рудко А.А.¹, Фрейдлин М.Б.¹, Брагина Е.Ю.¹,
Ан А.Р.², Гараева А.Ф.¹, Пузырев В.П.^{1,2}

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской генетики»

634050, г.Томск, Набережная р. Ушайка, 10
E-mail: aleksey.rudko@medgenetics.ru

² ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет МЗ РФ

634050, г.Томск, Московский тракт, д 2

На фоне успехов в изучении генома человека, все большую популярность приобретают полногеномные ассоциативные исследования (GWAS), обладающие высокой мощностью

и позволяющие идентифицировать новые гены-кандидаты. Исходя из концепции общих патогенетических механизмов, результаты GWAS, установившие локусы восприимчивости для различных иммунных патологий, могут быть использованы и для поиска новых генов подверженности ТБ. Данная гипотеза легла в основу настоящей работы: в этнически дифференцированных популяциях Сибири (русские и тувинцы) был выполнен поиск ассоциации ТБ с полиморфными вариантами генов, проявивших ранее ассоциацию с болезнью Крона (БК). Для проведения исследования у русских г.Томска (304 больных ТБ и 149 здоровых) и коренного населения Республики Тува (238 больных ТБ и 263 здоровых) проведён анализ ассоциации ТБ с полиморфными вариантами генов, связанных по данным полногеномных исследований с БК. Генотипирование выбранных полиморфных маркёров выполнено с помощью iPLEX-анализа полиморфизмов на масс-спектрометре «MassARRAY System SEQUENOM». В результате проведённого исследования в популяции русских впервые обнаружены статистически значимые ($p < 0.05$) ассоциации ТБ со следующими полиморфизмами: rs2872507 (*ORMDL3*), rs3810936 (*TNFSF15*), rs10192702 (*ATG16L1*), rs9286879 (1q24.3), rs10507523 (13q14.11). У тувинцев ассоциации с заболеванием выявлены для полиморфных вариантов rs1407308 (*TNFSF15*) и rs1736135 (21q21.1). Согласно базам данных генетических ассоциаций, ни один из генов, проявивших ассоциацию с ТБ в настоящем исследовании, ранее в отношении подверженности заболеванию не был изучен. Обнаруженные ассоциации могут быть обусловлены функциональной ролью кодируемых белков и их патогенетическим влиянием на иммунные реакции, связанные с развитием инфекции.

Наследственная моторно-сенсорная невропатия IA и наследственная невропатия с предрасположенностью к параличам от сдавления — один механизм образования двух неврологических заболеваний

Румянцева Н.В., Осадчук Т.В.,
Наумчик И.В., Качан Ю.П.

Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя», Минск, Беларусь

70—80% наблюдений наследственной моторно-сенсорной невропатии IA (НМСН IA, OMIM 118220) и наследственной невропатии с предрасположенностью к параличам от сдавления (ННППС, OMIM 162500) обусловлены субмикроскопическими изменениями хромосомного участка 17p11.2, содержащего миелиновый ген *PMP22*. В мейозе может происходить неравный кроссинговер между высокомолекулярными элементами, фланкирующими ген, с образованием двух аномальных хромосом: одна содержит тандемную дупликацию 17p11.2, другая — делецию. Наследование гамет с дупликацией приводит к развитию НМСН IA, делеция лежит в основе ННППС. Результатом единого мутационного события, обусловленного разнонаправленными нарушениями дозы гена *PMP22*, являются 2 заболевания, имеющие аутосомно-доминантное наследование, сходные моторно-сенсорные расстройства, демиелинизирующие проявления на ЭНМГ, общий принцип диагностики.

Мы представляем данные белорусских пациентов с НМСН IA и ННППС с целью оптимизации диагностики и медико-генетического консультирования (МГК).

ДНК-анализ образцов геномной ДНК из лейкоцитов периферической крови с использованием микросателлитных маркёров хромосомы 17 (D17S2218, D17S2220, D17S2223, D17S2226, D17S2229), позволяющих определять дупликацию/делецию гена *PMP22*, был проведён пациентам с проявлениями невропатии и их родственникам. Выявлено 86 лиц с му-

тацией гена *PMP22* (возраст варьировал от 4 до 60 лет). Дупликация гена *PMP22* установлена в 42 семьях у 77 пациентов (семейные случаи — 54,7%). НМСН IA дебютировала на 1—2 декаде жизни симметричным поражением дистальных мышечных групп конечностей, выпадением рефлексов, расстройством чувствительности, признаками демиелинизации на ЭНМГ — скорость проведения импульса (СПИ) по срединному нерву составляла 12—28 м/с.

Делеция гена *PMP22* (ННППС) выявлена в 5 семьях у 9 обследованных. У 2 детей-пробандов с дебютом на 1—2 декаде жизни и у 3 взрослых пробандов (дебют на 3—4 декаде) отмечались парезы/параличи отдельных нервов с последующим полным/частичным восстановлением; в динамике отмечалось нарастание моторных и сенсорных расстройств, демиелинизирующие изменения на ЭНМГ, соответствующие поражённым нервам, сегментарный характер поражения, снижение СПИ, блоки проведения импульса.

Проведено МГК по прогнозу потомства и возможностям пренатальной ДНК диагностики.

Анализ значимости аллельных вариантов генов репарации двуниевых разрывов ДНК у жителей Кузбасса, больных раком лёгкого

Рыжкова А.В., Минина В.И., Баканова М.Л., Титов Р.А., Кулемин Ю.Е., Воронина Е.Н.

ФГБУН «Институт экологии человека» СО РАН г. Кемерово, проспект Ленинградский 10 kotia1490@mail.ru

Рак лёгкого (РЛ) занимает первое место в онкозаболеваемости мужского населения России (18,9%) и имеет наибольший удельный вес в структуре смертности от злокачественных новообразований (17,4%). Рядом исследований было показано, что на предрасположенность к злокачественным заболеваниям влияют наследственные особенности ферментов репарации ДНК. Мутации ДНК-репарирующих генов увеличивают риск возникновения опухолевой трансформации. В связи с этим, целью данного исследования стало изучение полиморфизма генов ферментов репарации двуниевых разрывов ДНК: *ATM* Asp1853Asn (rs 664143), *NBS1* Glu185Gln (rs 1805794), *XRCC2* Arg188His (rs 3218536), *XRCC3* Thr241Met (rs 861539) у больных РЛ и здоровых жителей Кемеровской области. Объектом исследования были 387 чел. (337 мужчин, 50 женщин) больных РЛ, поступивших на лечение в Кемеровский областной онкологический центр и 316 здоровых жителей (255 мужчин, 61 женщина) Кемеровской области. Все обследованные подписывали протокол информированного согласия. ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови методом фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование полиморфных маркёров *ATM* Asp1853Asn, *NBS1* Glu185Gln проводили с использованием метода «SNP-экспресс» и набора реактивов, разработанного НПФ «Литех» (г. Москва). Типирование генов *XRCC2* Arg188His, *XRCC3* Thr241Met проводили методом мультиплексной ПЦР с флуоресцентной детекцией результатов в режиме реального времени. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA for Windows 6.0». Оценку соответствия распределений полиморфных вариантов равновесию Харди—Вайнберга осуществляли с использованием доступного интернет-ресурса: <http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>. При сравнении частот генотипов применяли стандартный критерий χ^2 Пирсона. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Вводили поправку Бонферрони для избежания ошибки I рода.

В результате исследования были выявлены отличия между группами мужчин с РЛ и здоровых по частоте встречаемости генотипа Asp/Asn ($\chi^2 = 4,27$; $p = 0,0387$) гена *ATM*, и по геноти-

пам Thr/Thr ($\chi^2 = 4,25$; $p = 0,0393$), Met/Met ($\chi^2 = 4,20$; $p = 0,0404$) гена *XRCC3*. У женщин различий частот генотипов и аллелей выявлено не было. Принимая во внимание необходимость учёта поправки на множественность сравнений (критерий Бонферрони $0,05/4 = 0,0125$) полученные результаты можно рассматривать на данном этапе как статистически не значимые, но свидетельствующие о перспективности продолжения поиска ассоциаций в данном направлении.

Исследование проведено при финансовой поддержке государственного задания Минобрнауки РФ №201464, программы «УМНИК» по Кемеровской области.

Первый опыт применения NGS с целью практической диагностики на примере МДД/МДБ в РФ

Рыжкова О.П., Поляков А.В.

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва oxana-ryz@rambler.ru

Мышечная дистрофия Дюшенна/Беккера (МДД/МДБ) — одно из самых частых наследственных заболеваний, встречающихся с частотой 1 на 3—3,5 тыс. новорождённых мальчиков. Ген *DMD* локализован на длинном плече X-хромосомы и является одним из самых протяжённых генов (3mb). В связи с этим возникают существенные трудности при его молекулярно-генетическом исследовании. В большинстве лабораторий в РФ проводится анализ только протяжённых делеций/дупликаций в гене *DMD*, которые составляют около 70% всех мутаций. Еще треть составляют точковые замены, а также небольшие делеции/дупликации, для которых не разработаны дешёвые и эффективные подходы к анализу. Целью данной работы стало создание системы NGS, пригодной для клинического использования, на примере детекции точковых мутаций в гене *DMD*.

Нами были переработаны и улучшены протоколы исследования, представленные фирмами-производителями NGS-технологий. Так как в клинической практике необходимо максимально снизить возможную ошибку, мы ввели возможность визуального и технического контроля на всех этапах создания библиотек. Также мы улучшили «выравнивание» концентратов конечных продуктов амплификации и унифицировали праймеры, для получения колоний фрагментов библиотеки на твердых носителях, что даёт возможность более равномерного секвенирования фрагментов и меньшего разброса в их «покрытии». Нами был проведён дизайн собственных праймеров, что значительно снизило себестоимость исследования на образец и дало возможность дальнейшего адаптирования используемой методики для других исследований. Также мы предусмотрели возможность расширения и улучшения предлагаемой нами системы. В результате работы была создана система детекции точковых мутаций методом NGS, включающая анализ генов *DMD*, *EMD*, *FHL1* и *LMNA A/C*. К настоящему времени проведено исследование ДНК 12 больных с клиническим диагнозом МДД/МДБ. В одном случае ранее выявлена протяжённая делеция (48—52 экзонов), в остальных не было выявлено протяжённых делеций/дупликаций в *DMD*, а также частых мутаций генов *CAPN3*, *FKRP*, *SMN*. В результате исследования у 3 больных обнаружены мутации в гене *DMD* (с.650-2A>G, с.1544dupT и с.2929C>T), у одного больного выявлена делеция с.69delC в гене *LMNA A/C*. Была подтверждена выявленная ранее протяжённая делеция. Таким образом у 36,4% больных без ранее исследованных мутаций диагноз МДБ/МДД подтверждён молекулярно-генетическими методами.

Эпигенетические ДНК-маркёры в крови: современные подходы к диагностике рака

Рыкова Е.Ю.¹, Морозкин Е.С.¹, Пономарева А.А.^{2,3}, Капицкая К.Ю.⁴, Ажикина Т.Л.⁴, Скворцова Т.Э.¹, Бондарь А.А.¹, Чердынцева Н.В.^{2,5}, Власов В.В.¹, Лактионов П.П.¹

¹ ИХБФМ СО РАН, Новосибирск, Россия

² Томский НИИ онкологии, Томск, Россия

³ ТПУ, Томск, Россия

⁴ ИБХ РАН, Москва, Россия

⁵ ТГУ, Томск, Россия

Для успешной терапии рака необходимы технологические тесты, пригодные для регулярного обследования больших групп населения и выявления опухолей на ранних стадиях. Перспективным подходом к диагностике является анализ ДНК-маркёров в составе циркулирующих ДНК крови (циркДНК). Однако выявление опухолеспецифических ДНК осложняется их низким содержанием в крови, фрагментацией циркДНК, наличием значительного количества циркДНК из нормальных клеток. Целью настоящей работы являлась разработка подходов к анализу ДНК-маркёров в крови для создания высокочувствительных и специфичных диагностических тестов. Анализ циркДНК здоровых доноров и пациентов проводи-

ли при помощи методов количественной ПЦР, микрочипов, массового параллельного секвенирования. Для пробоподготовки использовали методы специфического обогащения, повышения эффективности диагностики за счёт использования циркДНК, связанных с поверхностью клеток крови. В качестве маркёров использовали известные ранее aberrантно метилированные гены, и новые маркёры, выявленные в результате анализа на геномном уровне. Анализ литературных данных и состояния диагностической базы клинических лабораторий позволяет надеяться на расширение номенклатуры эпигенетических маркёров, которые можно будет использовать для ранней диагностики рака. Разработанные нами высокочувствительные метил-специфичные TaqMan ПЦР направлены на выявление aberrантно метилированных ДНК в крови с абсолютной специфичностью. Определение панели из трёх наиболее эффективных гиперметилированных маркёров в составе циркДНК крови позволяет диагностировать больных раком лёгкого с чувствительностью 92%, специфичностью 97%. Дальнейший поиск оптимальных aberrантно метилированных маркёрных ДНК необходим для повышения эффективности неинвазивной диагностики.

Работа поддержана программой фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные исследования для разработки биомедицинских технологий» на 2014–2016 гг. (ФИМТ-2014-208), и в рамках программы «Постдок в ТПУ».