

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.

**Новые патогенные варианты гена *GBA*,  
кодирующего глюкоцереброзидазу, выявленные  
у пациентов с болезнью Гоше  
в российской популяции**

*Савостьянов К.В., Пушков А.А., Геворкян А.К.,  
Гундобина О.С., Никитин А.Г., Пахомов А.В.,  
Муравьева Л.В., Мовсисян Г.Б.*

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Научный центр здоровья детей», Россия, Москва, Ломоносовский  
просп., 2, стр.1

E-mail: [KV Savostyanov@nczd.ru](mailto:KV Savostyanov@nczd.ru)

Болезнь Гоше — это наиболее распространённая лизосомная болезнь накопления из группы сфинголипидозов, обусловленная мутациями в гене *GBA*, приводящими к дефициту фермента глюкоцереброзидазы.

В исследовании были включены 90 неродственных пациентов со сниженной активностью β-глюкозидазы в лейкоцитах, 79 из которых дети в возрасте до 18 лет, что составляет примерно 95% официально зарегистрированных случаев детей с болезнью Гоше в России. У всех пациентов методом прямого автоматического секвенирования были исследованы экзон 2—12 гена *GBA*, а также прилегающие интронные области. Клиническая значимость всех выявленных отклонений от референсной последовательности гена *GBA* анализировалась с помощью программы Alamut Visual. In silico анализ был проведён для всех неописанных мутаций.

В результате исследования были выявлены 13 неописанных в мире миссенс мутаций: *c.243T>A (p.Ser81Arg)*, *c.344A>G (p.Gln115Arg)*, *c.375C>T (p.Thr125Ile)*, *c.625C>G (p.Arg209Cys)*, *c.892T>G (p.Phe298Val)*, *c.922G>C (p.Ala308Pro)*, *c.1157T>G (p.Phe386Cys)*, *c.1268C>A (p.Ala423Asp)*, *c.1376T>G (p.Leu459Arg)*, *c.1381C>T (p.His461Tyr)*, *c.1039A>T (p.Ile347Phe)*, *c.868T>C (p.Phe290Leu)*, *c.1027T>G (Tyr343Asp)*, две нонсенс мутации *c.183C>A (p.Tyr61X)*, *c.732C>A (p.Tyr244X)* и две делеции *p.Ile158\_Pro161del (c.474\_485del)*, *c.334\_338del p.Glu112Valfs\*32*. В общей сложности было выявлено 17 новых патогенных мутаций у 21 пациента (23,3%), при этом мутация *p.Ala423Asp* встретилась у четырёх человек, тогда как *p.Ile158\_Pro161del* была найдена дважды. Наиболее часто встречающимся мутантным аллелем был аллель *c.1226A>G (p.Asn409Ser)* гена *GBA*, который встретился в 78 (43,3%) из 180 аллельных вариантов гена *GBA*. Вторым по частоте был аллель *p.Leu483Pro (c.1448T>C)*, который встретился в 47 (26,1%) из 180 аллельных вариантов гена *GBA*. При этом двум пациентам, гомозиготным по данному аллелю, был поставлен диагноз болезнь Гоше, тип 2, тяжёлая нейропатическая форма. Третьим по

частоте встречаемости был аллель *c.667T>C (p.Trp223Arg)*, выявленный в 12 случаях (6,7%) из 180 аллельных вариантов гена *GBA*. Исходя из частоты встречаемости этих аллелей, их можно считать характерными для российской популяции. Всего нами было выявлено 34 различных аллельных варианта гена *GBA*, при этом неописанные ранее мутации встречались у каждого пятого пациента, включенного в исследование.

**Анализ ассоциации полиморфных вариантов  
генов *APOB-100*, *LRPAP1*, *ABCG5* и *ABCG8*  
с риском развития желчнокаменной болезни  
в Республике Башкортостан**

*Сагдатова А.А.<sup>1</sup>, Нургалеева А.Х.<sup>2</sup>,  
Загидуллин Ш.З.<sup>1</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>2,3</sup>*

<sup>1</sup> Башкирский Государственный медицинский университет  
e-mail: [hiame@mail.ru](mailto:hiame@mail.ru)

<sup>2</sup> Башкирский Государственный университет

<sup>3</sup> Институт биохимии и генетики, Уфимский научный центр РАН

Желчнокаменная болезнь (ЖКБ) — это обменное заболевание гепатобилиарной системы, характеризующееся образованием желчных камней в желчном пузыре, в общем желчном протоке, в печеночных желчных протоках. 10% населения Земли страдает ЖКБ, и количество больных в мире с каждым десятилетием становится больше. ЖКБ является полигенетическим заболеванием, так как большое количество генов участвуют в гомеостазе холестерина, основного компонента конкрементов. В связи с этим представляется актуальным исследование полиморфных вариантов генов, кодирующих белки, которые участвуют в процессе формирования ЖКБ, определяющих вариативность их структуры и экспрессии.

Целью работы было изучение ассоциации полиморфных вариантов генов *APOB-100 (rs693)*, *LRPAP1 (rs11267919)*, *ABCG5 (rs4131229)* и *ABCG8 (rs11887534)* с риском развития ЖКБ. Материалом послужили образцы ДНК 205 пациентов с ЖКБ и 190 здоровых индивидов. ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование проводилось с помощью метода ПЦР-ПДРФ.

Установлено, что гетерозиготный генотип *X+X*-полиморфного варианта *rs693* гена *APOB-100* является маркером повышенного риска развития ЖКБ у русских ( $p = 0,03$ ; OR = 2,1). Для татар показано, что аллель *X*-полиморфного локуса *rs693* гена *APOB-100* и аллель *C* однонуклеотидной замены *rs4131229* в гене *ABCG5* являются маркерами повышенного риска

( $p = 0,002$ ; OR = 2,0 и  $p = 0,02$ ; OR = 1,7 соответственно), а аллель *rs693\*X+*, аллель *rs4131229\*Т* и генотип *rs4131229\*Т/Т* является маркерами пониженного риска развития ЖКБ ( $p = 0,002$ ; OR = 0,5;  $p = 0,02$ ; OR = 0,6 и  $p = 0,03$ ; OR = 0,5 соответственно). Распределение частот аллелей и генотипов полиморфных вариантов *rs11267919* и *rs11887534* в группах больных ЖКБ и контроля оказалось схожим ( $p > 0,05$ ).

### Эпигенетические модификации импринтированных локусов генома при привычном невынашивании беременности

Саженова Е.А.<sup>1\*</sup>, Лебедев И.Н.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ НИИ медицинской генетики, г. Томск, 634050, ул. Набережная р. Ушайки, д. 10  
\* *elena.sazhenova@medgenetics.ru*

<sup>2</sup> Национальный исследовательский Томский государственный университет

Невынашивание беременности — одна из основных проблем репродукции человека, частота которой составляет 15—27%, при этом около 20% женщин имеют привычное невынашивание беременности (ПНБ). Одним из ключевых эпигенетических феноменов, вовлечённых в обеспечение эмбрионального развития плацентарных млекопитающих, является геномный импринтинг, молекулярные механизмы нарушений которого связаны с аномалиями дифференциального метилирования импринтированных генов. Целью настоящего исследования явился анализ эпигенетического статуса ряда импринтированных генов (*PEG1*, *PEG10*, *PLAGL1*, *KCNQ10T1*, *PEG3* и *GRB10*), дифференциально метилированных по данным предварительного микро칩ового исследования в группах спонтанных абортусов с нормальным кариотипом от женщин с привычным или спорадическим невынашиванием беременности.

Исследованы плацентарные ткани (цитотрофобласт хориона и внезародышевая мезодерма) 120 спонтанных абортусов от женщин с ПНБ (группа I) и 114 эмбрионов от женщин со спорадическим прерыванием беременности (группа II). В качестве контрольной группы исследовано 100 медицинских абортусов. Показано наличие эпимутаций по каждому исследованному гену в обеих группах, за исключением контрольной. Эпимутации, представленные только гипометилированием, приводящим к формированию двойной дозы гена, показаны для генов *KCNQ10T1*, *PEG3* и *GRB10*. В то время как в *PEG1*, *PEG10* и *PLAGL1* кроме гипометилирования было обнаружено и гиперметилирование, приводящее к полному отсутствию экспрессии конкретного гена. В целом, средняя частота эпимутаций в группе I составила 3,6%, в то время как в группе II — 1,3% ( $p = 0,001$ ). В том числе частота гаметических эпимутаций составила 0,39% в группе I и 0,03% в группе II, тогда как соматические эпимутации встречались с частотами 2,8% и 1,3% соответственно. Впервые показан мультилокусный характер эпимутаций, частота которого в группе I составила 0,83%, а в группе II — 0,18%. Таким образом, множественные нарушения импринтинга, возникающие преимущественно в соматических клетках эмбрионов и изменяющие баланс дозы генов материнского и отцовского происхождения, характерны для привычного невынашивания беременности.

Исследование поддержано грантом Президента РФ для ВНШ (№14.120.14.5096-НШ).

### Клинический случай новой мутации в гене *GDAP1* в семье с доминантной наследственной моторно-сенсорной нейропатией

Сайфуллина Е.В.<sup>1</sup>, Магжанов Р.В.<sup>1</sup>, Хидиятова И.М.<sup>2</sup>, Скачкова И.А.<sup>2</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет»,

450000, г.Уфа, ул. Ленина, 3, *riledin@mail.ru*

<sup>2</sup> ФГБНУ Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, 450054, г.Уфа, Просп. Октября, 71

Среди клинических форм наследственных моторно-сенсорных нейропатий, обусловленных мутациями в гене *GDAP1*, выделяют рецессивные (НМСН4А) и доминантные (НМСН 2К) формы. Как правило, доминантные формы заболевания отличаются более поздним началом и медленным прогрессированием болезни.

В семье Е. русской этнической принадлежности с выявленной новой гетерозиготной мутацией в гене *GDAP1*: с.934G>A (p.Ala312Thr), заболевание наблюдалось в трёх поколениях с передачей по доминантному типу. Манифестация болезни у пробанда и его больных родственников отмечалась на 1—2 десятилетия жизни. Клиническая картина заболевания у пробанда (мужчины 34 лет) представлена умеренным в руках и выраженным в ногах периферическим дистальным тетрапарезом, эквиноварусной деформацией стоп, деформацией кистей по типу «обезьяньей лапы», нарушением чувствительности в стопах и кистях, признаками сенситивной атаксии. Пациент передвигается самостоятельно, походка изменена по типу «степ-паж». Следует отметить, что у родной сестры и матери пробанда клинические проявления болезни были более лёгкими и характеризовались невозможностью ходьбы на пятках, отсутствием ахилловых рефлексов и негрубой сенситивной атаксией. 11-летняя дочь и 9-летний племянник пробанда жаловались на боли в мышцах ног, особенно при физических нагрузках. При их осмотре выявлены затруднение ходьбы на пятках, невозможность приседания на полную ступню, отсутствие ахилловых рефлексов. При ЭНМГ — исследовании пробанда отмечается снижение амплитуды М-ответов до 0,2—0,4 мВ и снижение скорости распространения возбуждения по двигательным волокнам срединных нервов до 38 — 35 м/с, что может соответствовать промежуточной форме НМСН или НМСН II типа.

### Полиморфизм политиминового повтора в гене *ТОММ40* в российской популяции и его связь с факторами риска ССЗ

Салахов Р.Р.<sup>1</sup>, Голубенко М.В.<sup>1,2</sup>,  
Макеева О.А.<sup>1,2</sup>, Пузырев В.П.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> НИИ КПССЗ, г. Кемерово, ул. Сосновый бульвар, 6  
*salarr@cardio.kem.ru*

<sup>2</sup> НИИ МГ, г. Томск, ул. Наб. р. Ушайки, 10

Ген *ТОММ40* кодирует белок tom40, который формирует центральную субъединицу транслоказы внешней мембраны митохондрий. В последнее время появляются данные об ассоциации полиморфизма этого гена с сердечно-сосудистыми заболеваниями и связанными с ними эндотипами. Целью нашей работы являлось изучение ассоциаций полиТ повтора (rs10524523) гена *ТОММ40* с количественными факторами риска у больных с инфарктом миокарда и в контрольной выборке.

Выборка больных с острым коронарным синдромом и диагнозом «инфаркт миокарда» составила 432 чел. Контрольная выборка была сформирована из людей, здоровых в отношении сердечно-сосудистой патологии (177 человека). Выделение ДНК производили методом фенол-хлороформной экстракции. Анализ полиморфизма полиТ повтора гена *ТОММ40* осуществляли методом фрагментного анализа на генетическом анализаторе Genetic Analyzer 3500 (Applied Biosystems).

Алели были разделены на три подгруппы в зависимости от длины повтора: S (длина повтора до 16 нуклеотидов), L (от 17 до 29) и VL (от 30 и больше). При сравнении контрольной выборки и больных с инфарктом миокарда не было найдено отличий в частотах генотипов и аллелей полиТ повтора. Частоты генотипов у больных ОКС и в контроле составили: S/S — 23,6% и

21,5%, S/L — 11,6% и 12,4%, S/VL — 36,2% и 35,6%, L/L — 2,7% и 3,4%, L/VL — 10,6% и 8,5%, VL/VL — 15,3% и 18,6% соответственно. При анализе ассоциаций носительства аллелей группы L с количественными признаками в выборке больных была выявлена ассоциация с уровнем общего холестерина ( $p = 0,035$ ). Кроме того, уровень значимости для диастолического давления имел пограничные значения и составил  $p = 0,055$ .

Исследование выполнено при частичной поддержке гранта РФФИ №13-04-02162-А.

## Молекулярно-генетические особенности фенилкетонурии в казахской популяции

Салимбаева Д.Н.

Республиканская медико-генетическая консультация, Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии МЗСР РК, 050020, г. Алматы, просп. Достык, 125, Казахстан [respmpgk@mail.ru](mailto:respmpgk@mail.ru)

Согласно зарегистрированным мутациям гена фенилаланин-гидроксилазы (PAH), в различных популяциях мира наблюдается этническими особенностями в гене PAH. Поэтому изучение частоты и спектра мутаций гена PAH в казахской популяции представляет определённый научно-практический интерес.

Было обследовано 27 зарегистрированных больных фенилкетонурией (ФКУ) казахской национальности из неродственных семей.

На первом этапе было проведено молекулярно-генетическое исследование наиболее частых мутаций в гене PAH (IVS10-11G>A, R261Q, R252W, R408W, IVS12+1G>A, R158Q, P281L, IVS14+5G>T) с использованием наборов PKU-8L ООО «Центр молекулярной генетики» (Москва). Наиболее распространённая в европейских популяциях мутация R408W у казахов отмечена с частотой 0,166, P281L — 0,092, IVS4+5G>T — 0,055, мутации IVS12+1G>A, IVS10-11G>A и R158Q встречались с равной частотой 0,019. Мутации R261Q и R252W у казахов не выявлены. Однако в 63% случаях мутации гена PAH у казахов не установлены.

Вторым этапом было использование метода прямого автоматического секвенирования гена PAH, который был проведён в лаборатории ДНК-диагностики МГНЦ РАМН, Москва. Дополнительно были выявлены мутации R243Q (0,278), W187X, Y387N, IVS12nt1 и IVS10-14C>G с частотой по 0,019 каждая. Частота неустановленных мутаций гена PAH уменьшилась до 0,278, в дальнейшем планируется провести полногеномное секвенирование гена PAH данной группе больных.

Для сравнения были обследованы больные ФКУ русские, проживающие в РК ( $n = 38$ ). Так мутация R408W у русских встречалась с достоверно более высокой частотой (0,513), чем у казахов (0,166) ( $p < 0,005$ ). Мутация R261Q была выявлена у русских (0,092), а у казахов в представленной выборке мутация не выявлена. Мутации IVS4+5G, IVS10-11G>A и R158Q были диагностированы только у больных казахов (0,055, 0,019 и 0,019 соответственно).

## Генетические предикторы ответа на неoadьювантную терапию у больных со злокачественными новообразованиями пищевода и прямой кишки

Сальникова Л.Е., Колобков Д.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, 119991, ГСП-1, Москва, ул. Губкина, д. 3 [E-mail: salnikova@vigg.ru](mailto:Email: salnikova@vigg.ru)

Выполнен анализ литературных данных и последующий метаанализ ассоциативных исследований роли герминальной и соматической изменчивости в детерминации ответа опухолей пищевода и прямой кишки на неoadьювантную терапию (химиотерапию, радиотерапию и радиохимиотерапию). Среди разных способов оценки эффективности терапии был выбран гистологический ответ опухоли, характеризующийся по степени регрессии опухоли (Tumor Regression Grade, TRG), оцениваемой в операционном материале. Опухолевую регрессию рассматривают как ключевой фактор прогнозирования эффективности проведённой предоперационной терапии; показана также корреляция регрессии опухоли и долгосрочных прогнозов лечения. Из 529 публикаций по данной теме в ресурсах PubMed, EMBASE, Web of Science и PharmGKB, в итоговый анализ включено 63 исследования. В индивидуальных работах выявлено 24 и 14 генетических маркёров для ректального и эзофагеального рака соответственно. Подход, основанный на выборе клинического фенотипа, наименее подверженного воздействию различных конфаундинг-факторов (временных, инструментальных и др.) оказался эффективным, и результаты метаанализа позволили выявить следующие маркёры. Успешность неoadьювантной терапии ректального рака ассоциирована с герминальными вариантами генов *TUMS* 2R/2R-2R/3R (rs34743033) и *MTHFR* 677C/C (rs1801133), отсутствием соматических мутаций в генах *TP53* и *KRAS*. При раке пищевода эффективность лечения выше у больных с геном *TP53* дикого типа. Все четыре маркёра, сопряжённые с высокой эффективностью терапии, встречаются совместно примерно у 10% больных с ректальным раком; неуспешность терапии, детерминируемая наличием всех четырёх альтернативных генетических вариантов совместно, может прогнозироваться у 3% пациентов.

## Распространённость «частых» форм наследственных заболеваний в российских популяциях

Салюкова О.А.<sup>1,2</sup>, Назаренко Л.П.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «НИИ медицинской генетики», г. Томск

<sup>2</sup> ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск [E-mail: olga.salukova@mail.ru](mailto:E-mail: olga.salukova@mail.ru)

Оценка спектра и распространённости наследственных болезней актуально для ориентации региональных медико-генетических служб на конкретные формы патологии. В результате изучения 10 регионов России с общей численностью обследованного населения более 2 млн чел. было выявлено 3933 больных с моногенной наследственной патологией [Зинченко Р.А., 2010]. Нами при изучении распространённости наследственной патологии в 5 регионах азиатской части России (Сибири) обследовано население 2 млн 113 тыс. и выявлено 2829 больных с менделирующей патологией с различным типом наследования. Для решения практических задач, связанных с профилактикой наследственной патологии важно выделить наиболее «частые» наследственные заболевания, встречающиеся в обследованных популяциях. Для этого нами проведено деление всех популяций на этнические группы.

## Распространённость «частых» наследственных болезней в российских популяциях

Регион (в скобках — количество обследованных популяций)	Этническая принадлежность	Численность (тыс. чел.)	Распространённость на 10 000 населения			
			АД	АР	Х-сц*	Суммарно
Европейская часть (10)**	Русские	2000,0	10,96	7,02	2,94	20,92
Сибирь (4)	Русские	1678,0	6,18	4,36	1,34	11,88
Республика Бурятия	Буряты	137,2	7,73	4,95	5,68	18,36
Республика Хакасия	Хакасы	57,6	5,19	2,12	0	7,31



Республика Алтай	Алтайцы	59,2	6,75	16,22	0	22,97
Республика Тыва	Тувинцы	180,6	3,11	2,3	2,2	7,61
Примечание. * — рассчитано на 10 000 мужчин; ** Зинченко Р.А., Сависько А.А., Амелина С.С. 2010						

Показано, что имеет место большее сходство по спектру наследственной патологии, но различие по распространённости. Возможно, это можно объяснить особенностями сбора материала в российских популяциях, но это не исключает реальные отличия в частотах менделирующих наследственных заболеваний в разных популяциях.

### Исследование ассоциации аллельных вариантов генов металлопротеиназ с невынашиванием беременности

**Сараев К.Н., Цуриков Р.В., Беланова А.А., Лебедева Ю.А., Машкина Е.В.**

Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1 perf-333@rambler.ru

Физиологическое течение беременности сопровождается перестройкой тканей в материнском организме. Для развивающегося эмбриона и формирующейся плаценты характерны ещё более выраженные изменения структуры, включающие деление клеток, закладку тканей и органов, миграцию клеток, инвазию экстраэмбриональных тканей в материнские ткани, плацентацию. Все эти процессы, и со стороны материнского организма, и со стороны эмбриона и плода, требуют перестройки межклеточного пространства и клеточной структуры ткани, что, в свою очередь, обусловлено работой системы протеолитических ферментов — металлопротеиназ — и их ингибиторов. Данные о роли аллельных вариантов генов металлопротеиназ в нарушении ранних этапов эмбриогенеза человека немногочисленны и противоречивы. Целью данной работы было исследовать ассоциацию аллельных вариантов генов металлопротеиназ с невынашиванием беременности первого триместра. Для молекулярно-генетического исследования использовали образцы ДНК, выделенной из лейкоцитов периферической крови 134 женщин с невынашиванием беременности в первом триместре беременности (спонтанный аборт (65 женщин) и неразвивающаяся беременность (69 женщин) на сроке 5—10 недель гестации). В контрольную группу вошли 144 женщины с физиологически протекающей беременностью. Полиморфизмы *-1607insG MMP-1*, *A-8202G MMP-9*, *C536T TIMP-1* исследовали методом аллель-специфичной ПЦР. Среди женщин со спонтанным абортом и неразвивающейся беременностью в первом триместре характер распределения частот генотипов и аллелей по полиморфизму *1607insG* гена *MMP-1* соответствует контрольной группе. В то же время выявлено увеличение доля гомозигот по аллели *A-8202* гена *MMP-9*. Для женщин с таким генотипом выявлено повышение относительного риска спонтанного прерывания беременности в 2,6 раза (95% CI 1,4—5,13), неразвивающейся беременности — в 3,1 раза (95% CI 1,6—5,8). Характер распределения частот генотипов по полиморфизму *A-8202G* гена *MMP-9* среди женщин с потерей беременности в первом триместре статистически значимо отличается от контрольной группы ( $p < 0,01$ ). Статистически значимых отличий в частотах генотипов и аллелей по полиморфному варианту *C536T* гена *TIMP-1* между исследуемыми группами женщин не выявлено.

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

### Генетические аспекты миотонической дистрофии у якутов

**Сваровская М.Г.<sup>1</sup>, Степанова С.К.<sup>2</sup>, Степанов В.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> НИИ медицинской генетики Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, 634050, г.Томск maria.swarovskaja@medgenetics.ru

<sup>2</sup> Якутский научный центр комплексных медицинских проблем Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, 677019, г.Якутск

По результатам генетико-эпидемиологических исследований в Республике Саха (Якутия) выявлена высокая частота отдельных форм орфанных болезней, в том числе и миотонической дистрофии I типа (МД) — наследственного нервно-мышечного заболевания с аутосомно-доминантным типом наследования. Одним из механизмов патогенеза МД является нестабильность генома, возникающая вследствие экспансии тринуклеотидных повторов. Ген миотонинпротеинкиназы (*DMPK*), ответственный за развитие МД 1 располагается на коротком плече хромосомы 19. Распространённость МД в разных регионах и этнических группах различна. В среднем по миру частота встречаемости исследуемой патологии составляет 4—5 заболевших на 100 тыс. населения. Максимальная частота МД зафиксирована в Квебеке (Канада) — 189 случаев на 100 тыс. населения. В популяции якутов частота МД достигает максимального значения в России (21,3 на 100 тыс. чел.).

Задачами настоящей работы было оценить генетическое разнообразие локуса *DMPK* у якутов, больных МД и в территориальных выборках якутских популяций на фоне населения Северной Евразии, выявить спектр связанных с МД SNP-гаплотипов у якутов в сравнении с мировыми популяциями, проанализировать структуру STR-гаплотипов в гене *DMPK* у больных МД и в популяции якутов, а также оценить возраст мутации в гене *DMPK* в якутской популяции. Обнаружена значимая генетическая дифференциация популяций Северной Евразии по SNP-маркерам и CTG-повторам гена *DMPK*. У больных МД из якутской популяции наблюдаются два основных SNP-гаплотипа. Первый из них (TTTCTC), встречающийся с частотой 40%, является общим для якутов и всех ранее исследованных популяций. Второй гаплотип (GTCCCTT, 16%) встречается только у якутов и не выявлен среди больных МД из других популяций. Гаплотипом основателя, сцепленным с динамической мутацией в локусе *DMPK* у якутов, является найденный с помощью анализа фланкирующих STR-маркёров гаплотип 8-3-6-9-1-2. Возраст мутации MD в якутской популяции, оцененный по STR-гаплотипам, составил  $3179 \pm 704,84$  года.

### Протективная роль полиморфного локуса rs1554286 гена *IL10* в этиопатогенезе псориаза

**Свержова К.А., Слесаренко Я.С., Ахметова В.Л., Галимова Э.С.**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Башкирский государственный университет»  
Учреждение Российской академии наук  
Институт биохимии и генетики  
Уфимского научного центра РАН  
elya-4@yandex.ru

Прогресс в изучении роли цитокинов в патогенезе аутоиммунных нарушений привел к открытию эндогенных противовоспалительных медиаторов. Выявлено, что интерлейкин-10 (IL-10) является важным супрессорным фактором для иммунопролиферативного и воспалительного ответа и подавляет действие всех монокинов (Хаитов Р.М., 2000). Он продуциру-

ется многими клетками, включая макрофаги, моноциты и активированные Th<sub>0</sub>, Th<sub>1</sub>, Th<sub>2</sub>, CD4+ Т-хелперы, CD8+ Т-цитотоксические лимфоциты. В гене *IL10* обнаружены однонуклеотидные и микросателлитные полиморфные варианты. Высокополиморфным является промоторный участок гена *IL10*.

Полиморфные варианты в промоторной области гена *IL10* приводят к нарушению регуляции транскрипции, что оказывает влияние на развитие и течение заболевания, в патогенезе которого значительную роль играет хронический воспалительный процесс.

Проведён анализ ассоциаций полиморфного варианта rs1554286 в промоторной области гена *IL10* с риском развития псориаза и псориатического артрита у русских Волго-Уральского региона.

Нами было выявлено, что аллель T rs1554286 гена *IL10* является маркером пониженного риска развития заболевания у больных псориазом в целом (OR = 0,71, 95% CI = 0,53—0,94). Для оценки возможного эффекта дозы аллеля использовался тест Кохрана—Армитаж. Данный тест также подтвердил протективный эффект для полиморфного локуса rs1554286 гена *IL10* (p = 0,020).

Анализ ассоциаций по моделям наследования показал статистически значимую ассоциацию между доминантной моделью (ТТ,ТсСс) полиморфного варианта rs1554286 гена *IL10* и ранней манифестацией, а также спорадической формой заболевания (p<0,05). Показано также, что аллель Т (rs1554286) гена *IL10* является протективным фактором развития осложнённого течения заболевания у больных псориазом.

## Биохимическая и молекулярно-генетическая диагностика тирозинемии, тип I

**Светличная Д.В., Муравьева Л.В., Журкова Н.В., Пушков А.А., Савостьянов К.В., Полякова С.И., Асанов А.Ю.**

ФГБНУ «Научный центр здоровья детей», Москва  
ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва  
div.swet@gmail.com

Тирозинемия, тип I — наследственное заболевание, связанное с нарушением метаболизма тирозина, вследствие мутаций гена *FAH* (локализация 15q23-q25). Распространённость 1:100—120 тыс. новорождённых. Развитие заболевания обусловлено дефицитом фумарилацетоацетатазы. В результате в тканях происходит накопление сукцинилацетона, сукцинилацетоацетата, малеилацетоацетата, фумарилацетоацетата, оказывающих токсичное действие на клетки печени и почечных канальцев. Лечение тирозинемии типа I включает назначение нитизинона в сочетании с диетой, исключающей тирозин и фенилаланин из рациона больного. Ранняя диагностика и своевременное начало лечения значительно улучшает прогноз заболевания.

В лаборатории молекулярной генетики и клеточной биологии НЦЗД впервые в России была разработана и валидирована методика определения сукцинилацетона в пятках крови, высушенных на фильтровальной бумаге методом тандемной масс-спектрометрии. После чего был проведён селективный скрининг 300 детей из разных регионов России с подозрением на тирозинемия, в результате которого была выявлена повышенная концентрация сукцинилацетона в 16 случаях. При вычислении соотношения концентраций тирозина, фенилаланина и метионина во всех 16 случаях диагноз тирозинемия, тип I был подтверждён биохимически. Для выявления первопричины развития заболевания было проведено молекулярно-генетическое исследование всех 16 пациентов, подтверждённых биохимически. Для этого из тех же сухих пятен крови была выделена ДНК, проведена ПЦР с олигонуклеотидами, подобранными специфическим образом, и отсекарованы все кодирующие и прилегающие интронные области гена *FAH*.

Всего нами было выявлено 11 различных патогенных аллельных вариантов гена *FAH*. У 11 пациентов были обнаружены 4 наиболее распространённые в мире мутации гена *FAH* (с.1062+5G>A, с.554-1G>T, p.Pro342Leu, p.Arg174X).

У троих детей — якутского, бурятского и казахского происхождения была обнаружена неописанная ранее мутация с.1090G>C (p.Glu364Gln) в гомозиготном состоянии.

Две другие неописанные мутации p.His333Pro и p.Val166Gly были обнаружены у двух девочек армянского происхождения, причём у одной девочки были выявлены обе эти мутации. Все неописанные мутации были проанализированы в программе Alamut Visual с последующим *in silico* анализом их патогенности.

## Ассоциация atopического дерматита и целиакии

**Свечникова Е.В.<sup>1</sup>, Щиголева Н.Е.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Филиал «Мединцентр» ГлавУпДК при МИД РФ, Москва, 4-й Добрынинский пер., д.4  
elene-elene@bk.ru

<sup>2</sup> ФГБУ РДКБ МЗ РФ, Москва, Ленинский пр., д.117

По данным литературы, у 80% детей, страдающих atopическим дерматитом (АД), отмечается отягощённый семейный анамнез. При этом чаще выявляется связь с atopическими заболеваниями по линии матери (60—70%), реже — по линии отца (18—22%). Наличие atopических заболеваний у обоих родителей повышает риск развития АД у ребёнка до 60—80%. При atopии у одного из родителей он снижается до 45—50%. Согласно последним западноевропейским данным около половины больных имеют мутацию в гене филатрина. На двух больших независимых когортах детей показана сильная взаимосвязь между носительством мутаций (r501x и 2282del4) в гене *FLG* и контактом с кошачьей перхотью в первый год жизни с ранним развитием АД. Фенотип atopического дерматита (или сходные изменения кожи) встречается на фоне наследственных заболеваний обмена веществ (чаще у детей раннего возраста). Описана ассоциация целиакии с АД.

В ФГБУ РДКБ МЗ РФ и в ГБУ МДГКБ ДЗ г.Москвы за последние 3 года прошли обследование и лечение 246 пациентов с целиакией у 24 из них имеется АД. АД наблюдался у 19 девочек и только у 5 мальчиков. Причём доля детей с целиакией и АД в возрасте от 5 лет меньше, чем в возрасте от 2 до 5 лет. Прослеживается связь, между выраженностью клинической картины целиакии и её манифестации с началом и тяжестью АД, рассчитанной по индексу SCORAD. По предварительным данным, АД может быть маркером целиакии, поэтому её целесообразно исключать при совпадении дебюта АД с введением в детский рацион продуктов с глютеном. Хотя нельзя исключить и случайное сочетание двух наследственных заболеваний одновременно из-за их достаточно высокой распространённости в популяции.

## Методы регионального анализа ассоциаций в поиске генетических факторов предрасположенности к распространённым заболеваниям человека

**Свищева Г.Р., Белоногова Н.М., Аксенович Т.И.**

Институт цитологии и генетики СО РАН,  
Новосибирск, 630090, ул. Лавертьева 10

Формирование предрасположенности к ряду распространённых заболеваний человека, таких как диабет, рак, сердечно-сосудистые и нейродегенеративные патологии, имеет сложную природу и происходит при активном участии генетических факторов. С целью поиска генетических вариантов, ассоциированных с распространёнными заболеваниями человека, все чаще производится ресеквенирование экзотов в исследуемой выборке. Анализ полученных в итоге генотипических

данных — большого числа генетических вариантов с низкой частотой — крайне неэффективен, если используется стандартный подход одноточечного анализа ассоциаций.

В связи с этим получил развитие и активно распространяется альтернативный подход — региональный анализ ассоциаций, позволяющий одновременно анализировать большое число редких генетических вариантов в пределах одного гена. Самый простой метод подобного рода (метод коллапсинга) предполагает суммирование генетических факторов в одну переменную, которая затем тестируется на ассоциацию с признаком. Этот метод, однако, имеет довольно низкую статистическую мощность, если эффекты анализируемых генетических вариантов имеют разный знак.

Методы с более высокой мощностью используют более сложные математические преобразования — ядерное сглаживание (методы SKAT) и/или функциональный анализ (методы FLM). Существующие пакеты программ позволяют анализировать этими методами как качественные, так и количественные признаки на неродственных выборках. Исследователи уже подтвердили эффективность метода SKAT на реальных данных: с его помощью были подтверждены ранее обнаруженные ассоциации генетического разнообразия двух генов с болезнью Паркинсона, а также найдены новые генетические детерминанты риска сердечно-сосудистых заболеваний.

Нашей группой разработаны аналогичные методы и пакеты программ, позволяющие производить региональный анализ ассоциаций на семейных выборках (методы FFBSKAT и famFLM). Мы показали, что при анализе таких выборок статистическая мощность методов FFBSKAT и famFLM значительно выше, чем у методов коллапсинга. Особое внимание мы уделили оптимизации вычислений, чтобы региональный анализ мог быть произведен за минимальное время.

### Гены предрасположенности к преэклампсии в казахской популяции

**Святова Г.С., Березина Г.М., Салимбаева Д.Н., Хорошилова И.Г.**

Республиканская медико-генетическая консультация, Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии МЗСР РК, 050020, г. Алматы, проспект Достык, 125, Казахстан [respimgk@mail.ru](mailto:respimgk@mail.ru)

Результаты GWAS (Genome-wide association study) по ПЭ (преэклампсия) в различных популяциях противоречивы в силу ограниченной статистической мощности большинства исследований, а также влияния микроэволюционных факторов в конкретных этнических популяциях. Таким образом, репликативное исследование генетических маркеров ПЭ, выявленных в GWAS в различных этнических популяциях, является актуальным для поиска значимых генетических полиморфизмов и выявления картины популяционной специфичности ассоциаций.

Цель исследования: изучить генетический вклад полиморфизма генов свёртывающей системы *FV* (rs6025), *FII* (rs1799963), фолатного метаболизма *MTHFR* (rs1801133, rs1801131), *MTRR* (rs1801394), *MTR* (rs1805087); ангиотензин-рениновой системы *eNOS3* (rs1799983), *ACE* (rs4340), *AGTR1* (rs5186) и липидного обмена *ApoC3* (rs5128) в развитие ПЭ в казахской популяции.

Методом PCR real time проведено репликативное исследование значимых 10 полиморфизмов у 205 родильниц с ПЭ и 300 родильниц без гипертензии беременных в 3 родильных домах г.Алматы. Диагноз ПЭ основывался на международных критериях, все обследуемые были казахской национальности и сопоставимы по паритету и соматическому анамнезу. Статистическая обработка проведена с использованием программ STATA13 и PLINK.

Статистически значимые отклонения от равновесия Харди—Вайнберга ( $p$ -value <0,01) обнаружены в основной группе для полиморфизмов *eNOS3* (rs1799983), *ACE* (rs4340) и *ApoC* (rs5128).

Проведён анализ ассоциаций всех 10 полиморфных маркёров с ПЭ с использованием линейной регрессионной аддитивной генетической модели. Силу ассоциаций оценивали в значениях показателя отношения шансов OR. Обнаружена статистически значимая ассоциация ( $p$ -value <0,05) 6 SNPs с развитием ПЭ в казахской популяции — *eNOS3* (rs1799983) с OR 2,8, *ACE* (rs4340) — OR 1,6, *AGTR1* (rs5186) с OR 2,4; *ApoC3* (rs5128) с OR 2,3; *FII* (rs1799963) — OR 4,6 и *MTR* (rs1805087) с OR 1,9.

### Анализ мутаций в генах *TP53*, *NOTCH1*, *SF3B1* и *BIRC3* у больных хроническим лимфолейкозом

**Северина Н.А., Никитин Е.А., Бидерман Б.В., Степанова Е.А., Судариков А.Б.**

ФГБУ «Гематологический научный центр» Министерства здравоохранения РФ  
125167, Москва, Новый Зыковский пр-д, 4  
[siverinnka@yandex.ru](mailto:siverinnka@yandex.ru)

У 10—15% больных ХЛЛ выявляется рефрактерность режиму FCR и продолжительность жизни составляет 2—3 года. Цитогенетическое исследование позволяет выявить 5—7% больных с первичной рефрактерностью к терапии, в то время как больных с клинически манифестной рефрактерностью, как минимум, вдвое больше. Умение идентифицировать таких пациентов до начала терапии принципиально, поскольку лечение состоявшейся рефрактерности представляет собой бесперспективную задачу. На основании анализа данных литературы полногеномного секвенирования у больных ХЛЛ мы выбрали гены *TP53*, *NOTCH1*, *SF3B1* и *BIRC3*, мутации в которых встречаются с частотой более 5% и могут являться факторами неблагоприятного прогноза. В рамках проспективного исследования нами проведён анализ мутаций в этих генах у 155 первичных больных ХЛЛ до получения ими медикаментозной терапии по протоколу FCR.

Исследование генов *TP53* (4—9 экзон), *SF3B1* (14—16 экзон), *BIRC3* (5—9 экзоны) было проведено с помощью секвенирования, исследование делеции гена *NOTCH1* (с.7541\_7542delCT) было проведено методом аллель-специфичной ПЦР. Мутации хотя бы в одном из исследуемых генов были выявлены у 71 из 155 исследуемых больных (46%), у 3 из 155 исследованных — в двух генах одновременно. Из 33 больных с нормальным кариотипом мутации генов были выявлены у 17 чел. (51,5%). Мутации представлены миссенс-мутациями или делециями нескольких оснований и являются гетерозиготными. Мутации гена *TP53* были обнаружены у 16 из 155 больных (10%), гена *NOTCH1* — у 26 из 155 (17%), *SF3B1* — у 25 из 155 (16%), *BIRC3* — у 4 из 81 исследуемого (5%). Выявлена статистически значимая связь наличия мутаций в гене *TP53* с немутированным вариантом генов иммуноглобулинов, делецией хромосомы 17p и рефрактерностью к флударабину. Мутация гена *NOTCH1* ассоциирована с трисомией 12 и немутированным вариантом генов иммуноглобулинов. Беспроспективная и общая выживаемость у больных с мутациями генов *TP53* и/или *NOTCH1* была достоверно ниже, чем в остальной группе пациентов. Статистически значимой ассоциации мутаций в генах *SF3B1* и *BIRC3* с клинико-биологическими характеристиками ХЛЛ, общей или беспродессивной выживаемостью не выявлено.

### Экспрессия генов *PPAR $\gamma$* , *ABCA1*, *ABCG1* и *OMENTIN 1* в интраабдоминальной жировой ткани

**Семенова И.А.<sup>1,3</sup>, Пантелеева А.А.<sup>1</sup>, Усенко Т.С.<sup>1,2</sup>, Демина Е.П.<sup>1</sup>, Николаев М.А.<sup>1</sup>, Баженова Е.А.<sup>2</sup>, Хе Чж.<sup>2</sup>, Неймарк А.Е.<sup>2</sup>, Беркович О.А.<sup>2</sup>, Баранова Е.И.<sup>2</sup>, Мирошникова В.В.<sup>1,2</sup>, Пчелина С.Н.<sup>1,2</sup>**



<sup>1</sup> *Петербургский институт ядерной физики, Санкт-Петербург, Россия*

*perhaps\_to\_be@mail.ru*

<sup>2</sup> *Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия*

<sup>3</sup> *Санкт-Петербургский государственный политехнический университет, Санкт-Петербург, Россия*

При абдоминальном ожирении существенно повышен риск развития сердечно-сосудистых заболеваний и сахарного диабета 2 типа. Это может быть связано как с нарушением обмена липидов, в частности холестерина, в интраабдоминальной жировой ткани (ИЖТ), так и с изменением синтеза и секреции жировой тканью гормоноподобных веществ — адипокинов. В основе этих процессов могут лежать тканеспецифичные изменения на уровне экспрессии генов, однако, характер этих изменений, равно как и конкретные гены, в настоящее время не установлены.

Целью исследования была оценка уровня мРНК генов *PPAR $\gamma$* , *ABCA1*, *ABCG1* и *Omentin 1*, содержания белков *PPAR $\gamma$* , *ABCA1* и *ABCG1* в ИЖТ, оментина 1 сыворотки крови, а также их корреляции с антропометрическими показателями.

Исследование было выполнено на 37 образцах ИЖТ, полученных из большого салника в ходе лапароскопической холецистэктомии (23 индивидуума с избыточным весом и абдоминальным ожирением, и 14 — без избыточного веса). Уровень мРНК исследуемых генов в ИЖТ оценивали с помощью ПЦР в режиме реального времени, уровень белков *PPAR $\gamma$* , *ABCA1* и *ABCG1* — методом вестерн-блот. Уровень оментина 1 в сыворотке крови оценивали методом ИФА.

Исследование показало, что относительный уровень мРНК генов *ABCA1* и *ABCG1* в ИЖТ положительно коррелирует с индексом массы тела (ИМТ) и обхватом талии. Уровень мРНК *PPAR $\gamma$*  в ИЖТ положительно коррелирует с содержанием белков *ABCA1* и *ABCG1*, а также с уровнем мРНК гена *Omentin 1* и с уровнем оментина 1 в сыворотке крови.

Полученные данные позволяют предполагать участие ядерного фактора *PPAR $\gamma$*  в контроле экспрессии гена *Omentin 1* и регуляции уровня белков-транспортёров холестерина *ABCA1* и *ABCG1* в ИЖТ.

*Исследование поддержано грантом РФФИ 14-04-31690.*

## **Исследование ассоциации полиморфизма -588С>Т в гене модифицирующей субъединицы глутамат-цистеин лигазы с развитием развития миомы матки**

*Семуткина О.Ю., Кудрявцева О.К., Долженкова Е.М., Корогодина Т.В., Иванова Н.В., 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: tearsinthenight@rambler.ru*

Миома матки (ММ) — доброкачественная опухоль, которая с высокой частотой встречается у женщин репродуктивного возраста. Окислительный стресс как результат снижения активности ферментов антиоксидантной защиты — один из важных аспектов патогенеза ММ. Глутатион (GSH)-трипептид, играет ведущую роль в защите клетки от окислительного стресса. GSH также является ключевым фактором, вовлечённым в клеточные сигнальные пути, участвует в детоксикации ксенобиотиков, модулирует пролиферацию клеток, апоптоз, иммунные процессы и фиброгенез. Скорость биосинтеза GSH регулируется GCL ( $\gamma$ -глутамилцистеин синтетазой), состоящей из каталитической (GCLC), и модифицирующей (GCLM) субъединиц,

которые кодируются генами *GCLC* и *GCLM* соответственно. Целью данной работы стало изучение ассоциации функционально значимого полиморфизма -588С>Т (rs41303970) гена *GCLM* с развитием ММ. Материалом для исследования послужила выборка 484 женщин: 279 больных ММ, находившихся на стационарном лечении в отделении оперативной гинекологии Курского областного перинатального центра и отделения оперативной гинекологии Курского городского клинического родильного дома в период с 2010 по 2014 гг., и 205 относительно здоровых женщин, сопоставимых по возрасту и не имеющих клинических и УЗИ-признаков ММ. Генотипирование полиморфизма -588С>Т гена *GCLM* проводили методом ПЦР в режиме «реального времени» путём дискриминации аллелей с помощью TaqMan-зондов. Распределение частот аллелей и генотипов в исследуемой выборке соответствовало популяционному равновесию Харди—Вайнберга. Различий в частотах аллелей между группами обнаружено не было. У больных ММ частота гомозигот -588СС была ниже (60,9%) по сравнению с контролем (68,8%), однако различия не достигали уровня статистически значимых: OR = 0,71, 95%CI = 0,48—1,04, p = 0,08. Частота гетерозигот -588СТ и вариантных гомозигот -588ТТ составила 25,4% и 5,9% в группе больных и 32,3% и 6,8% в контрольной группе соответственно.

## **Клинико-генетические особенности синдрома Марфана у российских больных**

*Семячкина А.Н.<sup>1</sup>, Адян Т.А.<sup>2</sup>, Новиков П.В.<sup>1</sup>, Поляков А.В.<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup> Обособленное структурное подразделение — НИКИ педиатрии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России 125412, Москва, Талдомская ул., д. 2  
E-mail: pnovikov@redklin.ru*

*<sup>2</sup> ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН 115478, Москва, ул. Москворечье, д.1*

Цель: на основании впервые разработанного в России метода прямой ДНК-диагностики синдрома Марфана выявить клинико-генетические особенности у больных с этим тяжёлым моногенным заболеванием соединительной ткани.

Работа базировалась на сравнительном анализе результатов клинико-генетического обследования 9 больных с синдромом Марфана в возрасте от 2 до 52 лет и четырёх их больных родственников с этим заболеванием из двух неродственных семей.

В гене *FBN1* выявлено 8 мутаций и у одного больного обнаружена замена с неизвестным клиническим значением, описанная в базе SNP под №rs 112287730 с частотой встречаемости 0,1%. Из 8 мутаций только 2 (25%) были описаны в литературе, остальные 6 (75%) выявлены впервые. Распределение выявленных мутаций было следующим: 3 мутации, приводящие к сдвигу рамки считывания (2 делеции и 1 инсерция), что составило 37,5%; 3 мутации сайта сплайсинга (37,5%) и по одной миссенс- (12,5%) и нонсенс- (12,5%) мутации. Выявленные мутации равномерно распределялись по всему гену. Мутации в экзонах 24–32 гена *FBN1* сопряжены с высоким риском формирования тяжёлой сердечно-сосудистой патологии с неблагоприятным жизненным прогнозом для всех возрастов.

В отличие от данных литературы, мутации в экзонах 62 и 66 у больных нашей выборки характеризовались тяжёлыми изменениями опорно-двигательного аппарата, сердечно-сосудистой системы и органа зрения.

Большинство мутаций (7 из 9) связаны с формированием тяжёлой патологии скелета и сердечно-сосудистой системы.

## Внешняя оценка качества определения кариотипа в лабораториях России, по данным ФСВОК

*Сердюк А.П.<sup>1</sup>, Ольшанская Ю.В.<sup>2</sup>, Антоненко В.Г.<sup>3</sup>, Золотухина Т.В.<sup>4</sup>, Лукаш Е.Н.<sup>5</sup>, Малахов В.Н.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> НП «ЦВКК»

119049, Москва, Ленинский пр., д. 1/2, корп. 1

E-mail: aserdyuk@fsvok.ru

<sup>2</sup> ФГБУ «ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

<sup>3</sup> ГБУЗ МО МОНКИ им. М.Ф. Владимирского

<sup>4</sup> ФГБУ «МГНЦ» РАМН

<sup>5</sup> ГБУЗ НПЦ ДП Департамента здравоохранения г.Москвы

Целью внешней оценки качества в лабораториях, выполняющих исследования по определению кариотипа, являются повышение качества цитогенетических исследований и выявление проблем лабораторий по диагностике генетических заболеваний. В рамках Федеральной системы внешней оценки качества клинических лабораторных исследований (ФСВОК) существует несколько разделов по определению кариотипа. В настоящем исследовании представлены результаты работы по данному разделу ФСВОК за 2013 г. Раздел по экспертной оценке качества микроскопического исследования цитогенетических препаратов лимфоцитов, изготовленных самими участниками ФСВОК, существует с 2007 г. — в 2013 г. по данному разделу результаты были получены от 19 участников, приславших 57 препаратов. В 89,2% случаев цитогенетический диагноз был установлен верно и записан в соответствии с требованиями ISCN 2013; неполный, либо неправильный диагноз поставили по 5,4% участников. Большинство замечаний по препаратам относились к недостаточному качеству окраски. В разделе «Определение кариотипа» (цифровые фотографии препаратов лимфоцитов) результаты были получены от 36 лабораторий по 72 цитогенетическим препаратам, из них 87,1% поставили правильный диагноз. Большинство ошибок были связаны с неточностями в записи формулы кариотипа. Около 90% участников обоих разделов верно формулировали заключение по установленному диагнозу, у остальных клиническая трактовка результатов отсутствовала или была неправильной. Раздел по цитогенетическому исследованию костного мозга, в котором участники получают контрольные препараты, изготовленные экспертами ФСВОК, существует с 2006 г. Результаты за 2013 г. по данному разделу были высланы 11 участниками, каждый из которых проанализировал по 3 препарата. Из них 48,4% участников правильно сформулировали и записали диагноз, 36,4% представили неполный диагноз и у 15,2% диагноз был неправильный. Правильная формулировка заключения в данном разделе была зафиксирована в 43,7% случаев, неполная — в 37,5%. Неправильно интерпретировали установленный диагноз 18,8% участников раздела.

## Фено- и генотипические особенности семейной гиперхолестеринемии в Санкт-Петербурге

*Серебренникова М.П.<sup>1</sup>, Константинов В.О.<sup>1</sup>, Липовецкий Б.М.<sup>2</sup>, Мандельштам М.Ю.<sup>3</sup>*

<sup>1</sup> Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова

Санкт-Петербург, 191015, Кирочная улица, 41

jajamash@gmail.com

<sup>2</sup> Институт мозга человека им. Н.П. Бехтерева РАН

<sup>3</sup> НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН

Семейная гиперхолестеринемия (СГ) — одно из самых распространённых наследственных заболеваний человека. Цель работы — изучить фено- и генотипические проявления СГ в Санкт-Петербурге, оценить особенности течения заболевания в процессе проспективного наблюдения в зависимости

от генетических и средовых факторов, а также на фоне лекарственной терапии. Нами обследовано 387 мужчин и женщин в возрасте 18—82 (средний возраст — 46 лет) с первичной гиперхолестеринемией типов II-a или II-b. Для анализа эта группа была дополнена 90 пациентами с установленным ранее в нашем центре диагнозом СГ. Длительность проспективного наблюдения составила 5 лет. Ишемическая болезнь сердца (ИБС) найдена у 47% лиц с СГ (39% мужчин и 21% женщин переносили в прошлом инфаркт миокарда). Интересно, что первые клинические проявления ИБС у женщин с СГ возникали в среднем на 10 лет позднее, чем у мужчин. Помимо кардиопротективного действия эстрогенов, мы связываем это с более высокими концентрациями липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) у женщин во всех возрастных группах, по сравнению с мужчинами. Мутации гена рецепторов липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) были найдены у 45 пробандов, при этом в 38 случаях эти мутации были оригинальными и не встречались в других семьях. Связи между типом мутации, выраженностью липидных нарушений и тяжестью течения ИБС установлено не было. У 20% пациентов с СГ отмечались ксантелазмы век, у 61% — сухожильные ксантомы, у 18% — липоидные дуги роговицы; в 52% случаев найдена комбинация этих признаков. За 5 лет проспективного наблюдения умерли 11 пациентов с СГ (7,4%). Лишь в одном случае смерть наступила от рака, в остальных — причиной смерти стали сердечно-сосудистые осложнения. Важно отметить, что среди умерших от сердечно-сосудистых причин, в 60% случаев смерть наступила от первого инфаркта миокарда. 14% пациентов с СГ не получали медикаментозной гиполлипидемической терапии, 61% — получали статины, 25% — комбинацию статина и эзетимиба. В 26% случаев лица, получавшие гиполлипидемическую терапию, не достигали целевых значений ХС ЛПНП. Интересно, что среди лиц, не достигших целевых значений холестерина, встретился существенно больший процент (40%) постоянных курильщиков. Таким образом, при профилактике ИБС у больных с СГ следует учитывать и другие генетические и средовые факторы, отрицательно влияющие на прогноз.

## Анализ роли регуляторных участков генов плацентарной ткани в формировании наследственной предрасположенности к преэклампсии

*Сереброва В.Н.<sup>1</sup>, Трифонова Е.А.<sup>1</sup>, Габидулина Т.В.<sup>2</sup>, Бухарина И.Ю.<sup>2</sup>, Степанов В.А.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> ФГБНУ «НИИ медицинской генетики», г.Томск

<sup>2</sup> ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и перинатологии», г.Томск

В настоящее время преэклампсия (ПЭ) рассматривается как одно из наиболее тяжёлых осложнений беременности, а также как основной фактор риска материнской и перинатальной заболеваемости и смертности. В связи с ведущей ролью плаценты в этиопатогенезе ПЭ, в настоящее время наиболее перспективным подходом для характеристики молекулярных механизмов данной патологии является изучение варибельности уровня экспрессии генов плацентарной ткани и механизмов регуляции данных изменений.

В представленной работе изучено 48 регуляторных однонуклеотидных полиморфных вариантов (rSNP) 23 новых генов-кандидатов, ассоциированных с ПЭ по данным анализа транскриптома плацентарной ткани. Проанализировано 1237 образцов ДНК женщин из 3 этнических групп (519 пациенток с ПЭ и 718 женщин с физиологическим течением беременности, составивших контрольную группу). Генотипирование проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии с использованием мультиплексной ПЦР.



Полученные данные свидетельствуют об ассоциации с ПЭ следующих 15 гSNP 11 генов: в русской популяции — rs12489120 гена *BHLHE40*, rs113968629 гена *PLIN2*, rs10985257 гена *CORO2A*, rs8109071 гена *SYDE1*, rs10423795 гена *LHB*, rs3771787 гена *HK2*, rs72959687 гена *INHA*; в якутской популяции — полиморфизмов rs10985257 и rs735111 гена *CORO2A*, rs2227262 и rs3802252 гена *NDRG1*, rs34845949 гена *SASH1*; в бурятской популяции — rs12489120 гена *BHLHE40*, rs113968629 гена *PLIN2*, rs56153523 гена *SYDE1*, rs7245838 гена *ZNF175*, rs12678229 гена *NDRG1* и rs66707428 гена *PPP1R12C*. Примечательно, что основными категориями по «GeneOntology» в которые вовлечены гены, показавшие в нашем исследовании ассоциацию с ПЭ, являются синтез и функциональная активность гормонов, связывание с белками, лиганд-рецепторные взаимодействия и связывание с ДНК.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант №14-04-01467).

## Спектр мутаций у российских больных в гене *WASP*

**Сермягина И.Г., Забленкова В.В., Поляков А.В.**

ФГБНУ Медико-генетический научный центр,  
115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1  
e-mail: sirina74@rambler.ru

Работа представляет результаты многолетнего опыта поиска мутаций в гене *WASP* у пациентов, направленных в лабораторию ДНК-диагностики ФГБУ МГНЦ.

Мутации, возникающие в гене *WASP*, приводят к развитию трёх фенотипов комбинированного первичного иммунодефицита: классический синдром Вискота—Олдрича (*WAS*, MIM #301000), X-сцепленная тромбоцитопения (*XLT*, MIM #313900) и врожденная X-сцепленная нейтропения (*XLN*, MIM #300299).

К концу 2014 г. обследованы пациенты из 110 неродственных семей, с клиническими диагнозами синдром Вискота—Олдрича, X-сцепленная тромбоцитопения и X-сцепленная нейтропения. Мутации в гене *WASP* были выявлены у 65 пробандов. Среди направляемых пациентов были, в основном, мальчики в возрасте от двух недель до нескольких лет. В случае смерти больного ребёнка, поиск мутации в гене *WASP* проводился у его матери. Среди обследованных было несколько больных девочек с подозрением на наследственную тромбоцитопению или нейтропению, однако, ни в одном из этих случаев, мутации не были найдены. Проведено 50 исследований на носительство мутаций у матерей пробандов и их родственников. Было выполнено 17 пренатальных диагностик, в некоторых семьях исследование проводилось дважды.

Для выявления мутаций проводилось секвенирование всей кодирующей последовательности и прилегающих участков гена *WASP*. Мутации в гене *WASP* распределены по всей его длине, однако известные районы более часто возникновения молекулярных дефектов. В российской выборке подтвердилось наличие всех основных «горячих» точек возникновения мутаций в гене *WASP*. В отличие от зарубежных исследований у российских больных доля выявленных малых делеций и инсерций существенно превышает количество миссенс-мутаций в гене *WASP*, а роль мутаций сплайсинга в развитии заболевания не так велика.

## Муковисцидоз в Алтайском крае

**Сероклинов В.Н.<sup>1</sup>, Никонов А.М.<sup>2</sup>, Таскина Н.И.<sup>2</sup>,  
Цыпченко О.В.<sup>2</sup>, Афонина Т.А.<sup>2</sup>,  
Сапкина М.Р.<sup>2</sup>, Логвинова Т.В.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» МЗ РФ, кафедра педиатрии ФПК и ППС, 656099, г. Барнаул, пр. Ленина, 40

v.seroklinov@mail.ru

<sup>2</sup> КГБУЗ «Диагностический центр Алтайского края», Алтайская межрегиональная медико-генетическая консультация, г. Барнаул  
<sup>3</sup> КГБУЗ «Алтайская краевая клиническая детская больница», г. Барнаул

В 2015 г. в Алтайском краевом центре муковисцидоза на учёте состоял 31 пациент в возрасте от 5 месяцев до 16 лет, 17 мальчиков и 14 девочек. У всех детей смешанная форма заболевания. Тяжёлое течение отмечено у 12 детей, средне-тяжёлое — у 16, лёгкое — у 3 больных.

Основными лечебными средствами постоянной базисной терапии больных МВ являются панкреатические ферменты, муколитики и гепатопротекторы. Доза креона подбирается индивидуально и составляет от 2 до 18 тыс. ЕД/кг массы тела в сутки. Из муколитических препаратов дети с МВ постоянно получают пульмозим ( $\alpha$ -дорназу) в дозе 2,5–5 мг в сутки в ингаляциях, N-ацетилцистеина — 30 мг/кг массы тела в сутки через рот. В последнее время как муколитическое средство применяется гипертонический (5% или 7%) раствор хлорида натрия по 4 мл 1–2 раза в сутки. В качестве гепатопротектора дети с МВ принимают урсосан (урсодезоксихолевую кислоту) в суточной дозе 15–35 мг/кг массы.

При обострении бронхолегочного процесса и в период плановой госпитализации в краевую клиническую детскую больницу (1 раз в 3–6 мес.) проводятся 2-недельные курсы антибиотикотерапии с учётом чувствительности микрофлоры бронхального секрета, кинезотерапия и физиотерапия.

В Алтайском крае 29 детей с МВ постоянно получают базисный препарат пульмозим ( $\alpha$ -дорназу) по 2,5 мг (2,5 мл) х 1 раз (при тяжёлом течении 2 раза в сутки) в сутки ингаляционно через небулайзер.

Таким образом, массовый неонатальный скрининг на МВ позволяет проводить раннюю диагностику МВ с помощью потового теста и ДНК-анализа. Раннее назначение базисной терапии (пульмозим, креон, АЦЦ, урсосан), использование современных антисинегнойных препаратов (цефтазидим, цефепим, ципрофлоксацин, ингаляционный тобрамицин) ведёт к повышению качества жизни пациентов с МВ.

## Цитогенетический контроль индуцированных плюрипотентных стволовых клеток в экспериментальных исследованиях болезни Паркинсона

**Симонова В.В.<sup>1</sup>, Лебедева О.С.<sup>2</sup>, Новосадова Е.В.<sup>2</sup>,  
Хаспеков Л.Г.<sup>1</sup>, Гривенников И.А.<sup>2</sup>, Федотова Е.Ю.<sup>1</sup>,  
Иллариошкин С.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научный центр неврологии», Волоколамское ш., 80, Москва, 125367; vera.simonova@rambler.ru

<sup>2</sup> ФГБНУ Институт молекулярной генетики РАН, Площадь академика Курчатова, 2, Москва, 123182

Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК), получаемые в результате репрограммирования соматических клеток разных тканей, открыли новые возможности для науки и медицины. С ними связывают создание клеточных систем, моделирующих нейродегенеративные заболевания и используемых для изучения патогенеза болезни и механизмов действия различных лекарственных препаратов. Важным преимуществом ИПСК, представляющих собой преобразованные клетки самого пациента, является устранение проблемы иммунной совместимости донора-реципиента, поэтому применение данной технологии открывает новые перспективы в развитии нейротрансплантации. Однако, судя по данным литературы, ИПСК могут нести значительные или полученные при репрограммировании мутации, либо сами по себе быть онкогенными. Поэтому за ними необходим тщательный контроль, в том числе, цитогенетический. В настоящей работе показаны

результаты цитогенетического анализа ИПСК, полученных от 3 доноров-мужчин с кариотипом 46,XY, двое из которых страдали болезнью Паркинсона (БП), и от клинически здорового донора. Один из пациентов с БП был компаунд-гетерозиготным носителем мутаций в гене *PARK2* (del 202-203AG во втором экзоне и сплайсинговая мутация IVS1+1G/A в первом интроне), другой имел две мутации в разных генах паркинсонизма (G2019S в 41-м экзоне гена *LRRK2* и N370S в 9-м экзоне гена *GBA*) в гетерозиготном состоянии. Для получения ИПСК у пациентов (после информированного согласия) под местным обезболиванием были взяты биоптаты кожи. В дальнейшем методом лентивирусной трансфекции были получены и охарактеризованы несколько независимых линий ИПСК. Цитогенетический анализ данных линий сделан согласно модифицированной методике для такого типа клеток на разных пассажах от 35 до 78 включительно. Для окрашивания препаратов применялся G-метод. В результате проведенного исследования хромосомной нестабильности, числовых и структурных перестроек выявлено не было.

Работа поддержана грантами Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология»

### Определение статуса метилирования генов белков экстрацеллюлярного матрикса в норме и при раке молочной железы

Симонова О.А.<sup>1</sup>, Кузнецова Е.Б.<sup>1,3</sup>, Поддубская Е.В.<sup>2</sup>, Стрельников В.В.<sup>1,3</sup>, Танас А.С.<sup>1,3</sup>, Руденко В.В.<sup>1,3</sup>, Залетаев Д.В.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «МГНЦ», 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1  
simonova\_o.a@mail.ru

<sup>2</sup> ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», 115478, Москва, Каширское ш., д.23

<sup>3</sup> ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

Белки внеклеточного матрикса играют огромную роль в поддержании жизнедеятельности клеток и обеспечивают их согласованную интеграцию в структуры тканей. Настоящее исследование посвящено изучению статуса метилирования промоторных областей 12 генов ламининов (*LAMA1*, *LAMA2*, *LAMA3A*, *LAMA3B*, *LAMA4*, *LAMA5*, *LAMB1*, *LAMB2*, *LAMB3*, *LAMC1*, *LAMC2*, *LAMC3*), 8 генов интегринов (*ITGA1*, *ITGA2*, *ITGA3*, *ITGA4*, *ITGA6*, *ITGA7*, *ITGA9*, *ITGB1*), 2 генов ницогенов (*NID1*, *NID2*), 2 генов кадеринов (*CDH2*, *CDH3*) и дистрогликана *DAG1* в норме и при раке молочной железы. Материалом для исследования послужили 194 парных образца опухоли и условно нормальной ткани молочной железы, 6 аутопсийных образцов нормальной молочной железы и 6 клеточных линий РМЖ. Нами выявлено, что 11 промоторных регионов (*LAMA1*, *LAMA2*, *LAMB1*, *ITGA1*, *ITGA4*, *ITGA7*, *ITGA9*, *NID1*, *NID2*, *CDH2*, *CDH3*) могут подвергаться аномальному метилированию при раке молочной железы с частотами от 1,9% до 42%, что подробно представлено в таблице.

Ген	Метилирование в опухоли и прилегающей условно нормальной ткани МЖ (%)	Метилирование в аутопсийных образцах молочной железы (%)	Наличие (+) / отсутствие (-) метилирования в клеточных линиях РМЖ					
			ZR	MCF7	T47D	BT	HBL	HS
<i>LAMA1</i>	29,4 (50/170)	0	+	+	+	+	+	-
<i>LAMA2</i>	25,8 (48/186)	0	+	+	+	+	+	-
<i>LAMB1</i>	28,5 (51/179)	0	+	+	+	+	-	-
<i>ITGA1</i>	15,2 (29/190)	0	-	-	-	-	-	-
<i>ITGA4</i>	29,8 (58/194)	0	+	+	+	+	-	-
<i>ITGA7</i>	3,1 (6/190)	0	-	-	-	+	-	-
<i>ITGA9</i>	38,9 (74/190)	0	+	+	+	+	+	-

<i>NID1</i>	36,2 (63/174)	0	+	+	+	-	-	+
<i>NID2</i>	38,7 (71/183)	0	-	+	+	+	-	-
<i>CDH2</i>	7,7 (14/181)	0	-	-	-	-	-	-
<i>CDH3</i>	33,3 (61/183)	0	+	+	+	+	+	-

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №14-04-01792 А.

### Возможности оптимизации терапии статинами с учётом генотипирования по *SLCO1B1* и *CYP2C9* у пациентов с сердечно-сосудистой патологией

Сироткина А.М.<sup>1</sup>, Хохлов А.А.<sup>1</sup>, Воронина Е.А.<sup>2</sup>, Хохлов А.Л.<sup>1</sup>, Сычев Д.А.<sup>3</sup>, Вызир О.В.<sup>2</sup>, Спешилова С.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ГБОУ ВПО Ярославский государственный медицинский университет МЗ РФ, Ярославль, ул.Революционная, 5

E-mail: a.sirotkina@mail.ru

<sup>2</sup> НУЗ Дорожная клиническая больница на ст. Ярославль ОАО «РЖД», Ярославль, ул. Чехова 34

<sup>3</sup> Российская медицинская академия последипломного образования МЗ РФ, Москва

Индивидуальный режим дозирования лекарственных средств (ЛС) на основе генотипирования может способствовать более эффективной и безопасной терапии. Ранее выявленные полиморфизмы генов *SLCO1B1* и *CYP2C9*\*2/\*3 у одного пациента может прогнозировать фармакологический ответ на ЛС, включая статины.

Цель исследования: у пациентов с дислипидемией определить частоту встречаемости полиморфизма генов *SLCO1B1*, частоту встречаемости полиморфизмов генов *CYP2C9*\*2/\*3 у носителей аллеля С гена *SLCO1B1*. Выявить распространённость полиморфизма сразу нескольких генов у одного пациента.

Проанализированы ДНК 523 пациентов в возрасте 55,3 ± 12,6 года (325 мужчин, 198 женщин) с дислипидемией. Пациенты были генотипированы по аллельному варианту гена *SLCO1B1* (Val174Ala, с. 521 T>C) и изоферментов цитохрома Р-450 (*CYP2C9*: 430 C>T (Arg144Cys \* 2) и *CYP2C9*: A>C (I359L \* 3) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме Real Time с использованием набора реагентов «SNP-экспресс» при помощи амплификатора IQ 5 (фирма Bio-Rad).

Полиморфизм гена *SLCO1B1* (TC/CC) выявлен у 173 пациентов (33,1%). TC: 150 (28,7%). CC: 23 (4,4%). У носителей С-аллеля *SLCO1B1* провели генотипирование *CYP2C9*\*2/\*3. Полиморфизм гена *CYP2C9*\*2 (СТ/ТТ) имеет место у 17 пациентов (15%): СТ — у 13 человек (11,5%), ТТ — у 4 (3,5%). Полиморфизм гена *CYP2C9*\*3 (АС) выявлен у 15 человек (13,3%). Проанализирована структура встречаемости полиморфизмов изученных генов: 1 пациент имеет полиморфизмы *SLCO1B1* (CC) + *CYP2C9*\*2 (ТТ), 2 человека — *SLCO1B1* (TC+CC) + *CYP2C9*\*2/\*3 (AC + СТ).

### «Фармакогенетика антиагрегантов: от поиска полиморфизмов к анализу микроРНК»

Сироткина О.В.<sup>1,2</sup>, Вавилова Т.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург

<sup>2</sup> НИЦ «Курчатовский институт», Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, г.Гатчина, Ленинградской обл.

Тромбоциты представляют собой безъядерные клетки периферической крови, формирующиеся в костном мозге в процессе мегакариоцитопоэза, выступают основным компонентом системы свёртывания крови, играют роль в процессах заживления ран, воспаления, ангиогенеза, метастазирования. Несмотря на большое количество исследований, посвящённых изуче-

нию молекулярно-генетических механизмов активации тромбоцитов, в настоящее время имеются ограниченные сведения о вкладе определённых локусов, генов или генетических полиморфизмов в развитие патологии тромбоцитарного звена гемостаза, которые не могут объяснить всей варибельности тромбоцитарной дисфункции и индивидуальный ответ на антиагрегантную терапию. В связи с этим стало активно развиваться направление исследований, касающееся анализа транскриптома и протеома тромбоцитов, в том числе анализ экспрессионного профиля тромбоцитарной РНК в норме и при различной патологии, в первую очередь сердечно-сосудистой — атеросклероз, острый коронарный синдром, инфаркт миокарда, ишемическая болезнь сердца, ишемический инсульт головного мозга. Нами были выявлены как генетические полиморфизмы, определяющие гиперагрегацию тромбоцитов и плохой ответ на антиагрегантную терапию, в первую очередь Leu33Pro гена GP IIIa рецептора для фибриногена GP IIb/IIIa, так и изменение количества мРНК в тромбоцитах при активации. Значимые изменения мРНК, в том числе преобразование пре-мРНК в зрелую мРНК были показаны для генов, кодирующих ключевые тромбоцитарные рецепторы: GP IIIa, GP Iba, P2Y12. Количество пре-мРНК и мРНК исследуемых генов изменялось в зависимости от степени активации клеток и было меньше при ингибировании тромбоцитарной активации селективными препаратами. Данные, полученные в экспериментах *in vitro* подтверждены наблюдениями у пациентов с сердечно-сосудистыми и цереброваскулярными заболеваниями, принимающих антиагрегантные препараты. Исследования последних лет показали также изменение экспрессионного профиля тромбоцитарной микроРНК в норме и при различной патологии. В частности было показано увеличение количества микроРНК miR340 и miR624 у пациентов с ишемической болезнью сердца по сравнению со здоровыми донорами (Sondermeijer B.M. et al, PLoS ONE. 2011;6(10):e25946). На фоне антиагрегантной терапии ацетилсалициловой кислотой в плазме крови уменьшался уровень тромбоцитарной микроРНК miR-223, miR-191, miR-126 и miR-150 (Willeit P. et al, Circ Res. 2013;112:595-600), на фоне двойной антиагрегантной терапии (ацетилсалициловая кислота + тиапиридины) увеличивался уровень микроРНК miR-126.

### Определение прогностически значимых делеций хромосом 13 и 17 у больных диффузной крупноклеточной В-лимфомой

Ситко В.В.<sup>1</sup>, Мишарина Ж.А.<sup>2</sup>, Минченко Ж.Н.<sup>1</sup>, Костюкова Н.И.<sup>3</sup>, Полубень Л.А.<sup>3</sup>, Бебешко В.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ГУ «Национальный научный центр радиационной медицины НАМНУ», Киев  
valentina-sitko@ya.ru

<sup>2</sup> Национальный медицинский университет им. А.А.Богомольца, Киев

<sup>3</sup> Киевский центр трансплантации костного мозга, Киев

Лечение и прогноз течения диффузной крупноклеточной В-лимфомы (ДКВЛ) у взрослых и детей в современной онкогематологии представляют огромную проблему. Резистентность субстратных клеток к стандартным полихимиотерапевтическим средствам, рецидивы заболевания в том числе и молекулярно-генетические, создают трудности в выборе адекватной терапии ДКВЛ и прогнозе течения этого заболевания.

Целью работы было определение прогностической значимости делеций в регионах 13q14.3, 13q34 и 17p13.1 в субстратных клетках больных ДКВЛ с помощью метода интерфазной флуоресцентной *in situ* гибридизации (I-FISH) для наиболее точной стратификации пациентов с такими генетическими аномалиями и назначения более эффективных программ терапии. Были исследованы препараты биопсийного материала лимфатических узлов, зафиксированных в парафине, и клетки костного мозга

40 больных ДКВЛ. Возраст больных колебался от 5 до 79 лет, мужчин было 23, женщин — 17. Средний возраст больных ДКВЛ составил  $45,25 \pm 3,08$  года. I-FISH-анализ проводили с использованием локуса специфических ДНК зондов: Vysis TP53/CEP 17 FISH Probe Kit (17p13.1), LSI D13S319 (13q14.3)/Vysis LSI 13q34 FISH probe kit (Abbott Molecular, USA).

Аномалии 13 и 17 хромосом были обнаружены у 22 из 40 обследуемых пациентов. Делеция региона 13q14.3 обнаружена у восьми больных ДКВЛ, у шести из них регистрировалась также делеция другого участка хромосомы 13 (13q34). Еще у четверых больных ДКВЛ идентифицировали делецию 13q34. В 18 случаях распределение сигналов было характерным для делеции 17p13.1, из них у девяти больных регистрировались клональные изменения, ещё у девяти пациентов количество аномальных клеток составляло не более 8%, однако значительно превышало пределы погрешности метода (2,15%). Аберрации хромосомы 17 достоверно чаще регистрировались у больных ДКВЛ с тяжёлым течением болезни. Это исследование показывает, что делеции участков 13 и 17 хромосом могут влиять на прогноз больных с ДКВЛ на молекулярно-генетическом уровне и таким пациентам показана более жёсткая полихимиотерапия для получения оптимальных результатов лечения.

### Механизмы антисмысловой регуляции экспрессии генов

Скоблов М.Ю., Сержанова В.А., Филатова А.Ю., Антонов И.В.

ФГБУ «МГНЦ» РАМН, 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1  
mskoblov@gmail.com

Регуляция экспрессии генов осуществляется на разных уровнях молекулярно-биологических процессов. Одной из широко распространённых и малоизученных является постранипционная регуляция за счёт некодирующих транскриптов, где самым известным примером является механизм РНК-интерференции, когда одна микроРНК способна влиять на экспрессию тысячи генов.

Антисмысловые транскрипты также являются широко распространёнными тонкими регуляторами транскрипции. По результатам ранее проведённых нами биоинформатических исследований каждый третий ген человека имеет потенциально регулятор в виде антисмыслового транскрипта — молекулы РНК, последовательность которой частично или полностью комплементарна мРНК этого гена.

Несмотря на частую встречаемость антисмысловых транскриптов, об их функции и механизмах действия известно пока немного. Но последние работы демонстрируют их большое разнообразие и широкий спектр различных механизмов. Так, помимо негативной регуляции смысловых транскриптов антисмысловыми известны случаи и позитивной регуляции, что было показано для в нескольких работах по изучению цис-антисмысловой регуляции, происходящей в одном геномном локусе. Для исследования транс-антисмысловой регуляции был разработан метод поиска РНК-РНК взаимодействий — РНК-pulldown. В результате было показано, что в клетке насчитывается огромное число таких взаимодействий, при этом только небольшая часть из них функциональна.

Из-за широкой распространённости данного явления механизм антисмысловой регуляции активно изучается как с помощью экспериментальных подходов, так и с использованием различных биоинформатических предсказаний.



## Возможности и перспективы сравнительной геномной гибридизации на микрочипах в клинической цитогенетике и репродуктивной медицине

Скрябин Н.А.<sup>1,2</sup>, Жигалина Д.И.<sup>2</sup>,  
Кашеварова А.А.<sup>1,2</sup>, Лебедев И.Н.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «НИИ медицинской генетики»,  
г. Томск, 634050, ул. Набережная р. Ушайки, д. 10

<sup>2</sup> Биологический институт Томского государственного университета,  
г. Томск  
nikolay.skryabin@medgenetics.ru

По сравнению с подходами, широко используемыми в настоящее время в клинической цитогенетике, метод сравнительной геномной гибридизации на микрочипах (aCGH) позволяет выявлять более широкий спектр хромосомных аномалий. Это становится возможным за счёт более высокой разрешающей способности метода и отсутствия этапа культивирования. В нашем aCGH институте используется для выявления хромосомных аномалий у пациентов с недифференцированной умственной отсталостью (УО), спонтанных абортусов с нормальным кариотипом (СА), для анализа мутаций, выявленных с помощью других методов, а также в преимплантационной диагностике.

Нами была проведена диагностика 79 пациентов с УО с помощью микрочипов Agilent 60K, в результате были выявлены 26 патогенных и условно патогенных CNV у 22 пациентов. Восемь из обнаруженных CNV были ассоциированы с известными микроделеционными/микродупликационными синдромами. При анализе 27 образцов плацентарных тканей СА с нормальным кариотипом с использованием микрочипов Agilent 180K нами выявлено 280 CNV, из которых 93 определены как потенциально патогенные. Обнаруженные CNV необходимо подтверждать с помощью ПЦР в реальном времени, одновременно с этим анализируется их родительское происхождение.

Для преимплантационной диагностики анеуплоидий обычно используются один-два бластомера, полученные на третий день культивирования, или клетки трофобластической оболочки, полученные на пятый день развития. В настоящее время нами проводится исследование возможности использования для этих целей внеклеточной ДНК из внутриполостной жидкости бластоцисты. Впервые в сравнительном аспекте проанализированы клетки бластоцисты и внутриполостной жидкости одного и того же эмбриона с использованием микрочипов Agilent 60K. В результате в обоих исследованных образцах выявлена моносомия 19, что позволяет обозначить перспективы развития принципиально нового направления в репродуктивной медицине — неинвазивная преимплантационная генетическая диагностика хромосомных болезней.

Работа получила финансовую поддержку грантов РФФИ №15-04-08265 и №14-04-32047.

## Микроструктурные перестройки хромосом у больных с ишемической болезнью сердца

Слепцов А.А.<sup>1,3</sup>, Назаренко М.С.<sup>1,3</sup>, Скрябин Н.А.<sup>1,3</sup>,  
Фролов А.В.<sup>2</sup>, Барбараш О.Л.<sup>2</sup>, Пузырев В.П.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской генетики», г. Томск

e-mail: alexei.sleptcov@medgenetics.ru

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

<sup>3</sup> Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск

Микроструктурные перестройки хромосом, согласно одной из гипотез, могут составлять «невывявленную» долю наследуемости в сложном фенотипе многофакторных заболеваний, включая сердечно-сосудистые. Цель настоящего исследования заключалась в поиске генов предрасположенности к патологии

через сравнительный анализ гибридизационных профилей атеросклеротически изменённых и неизменённых артерий у одних и тех же индивидов с помощью микрочиповых технологий. Для эксперимента образцы ДНК были получены из биоптатов тканей правых коронарных артерий с атеросклеротическими бляшками и непоражённых внутренних грудных артерий от шести мужчин с ишемической болезнью сердца. ДНК мужчины европейского происхождения (Agilent Euro Male) использовалась в качестве референсной при проведении матричной сравнительной геномной гибридизации на микрочипах SurePrint G3 Human CGH+SNP Microarray 2x400 K (Agilent Technologies, США). У одного индивида в образце правых коронарных артерий с атеросклеротическими бляшками обнаружена полиплоидия. В тканях как атеросклеротически изменённых, так и неизменённых артерий выявлено значительное количество вариаций числа копий участков ДНК (CNVs). Однако анализируемые ткани были сопоставимы друг с другом по уровню и спектру микроструктурных перестроек хромосом. Кроме известных CNVs, в тканях сосудистой стенки одного больного, в хромосомном субсегменте 12p12.1(ABCC9), идентифицирована амплификация (16,813 Kb), неучитанная в Database of Genomic Variants. В 7 из 8 хромосомных регионов потеря гетерозиготности носила копий-нейтральный характер и захватывала гены-кандидаты атеросклероза (ABCBI, EDNRB, ACE, PECAM1).

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ (соглашение №14-15-00305).

## Детекция и мониторинг лечения минимальной остаточной болезни при хроническом миелолейкозе методом ПЦР

Смагулова Г.К., Габбасова С.Т., Джазылтаева А.С.,  
Насипов Б.А., Сагиндыков Г.А.

Казахский научно-исследовательский институт онкологии и радиологии

Казахстан, Алматы, пр.Абая 91,  
gulsum\_smagulova@mail.ru

Метод ПЦР в диагностике и мониторинге терапии хронического миелолейкоза (ХМЛ) ингибиторами тирозинкиназ применяется в Казахском НИИОнР в течение 5 лет. За это время было обследовано 125 пациентов с впервые в жизни установленным диагнозом ХМЛ, 55 из которых были обследованы повторно с целью мониторинга терапии. Всего проведено 320 цитогенетических и молекулярно-генетических исследований.

Забор костного мозга и периферической крови для ПЦР диагностики проводился в пробирки с ЭДТА. Для экстракции мРНК химерного гена BCR/ABL из клинического материала, для выявления и количественной оценки экспрессии химерного гена BCR/ABL методом ПЦР в режиме реального времени использовались коммерческие наборы. Детекция продуктов ПЦР проводилась на амплификаторе Rotor Gen 6000.

Среди пациентов, получавших ингибиторы тирозинкиназ 1-й линии, в 80% случаях отмечалась положительная динамика с клинико-гематологической ремиссией, частичным цитогенетическим и частичным молекулярным ответом уже через 6 мес. Среди пациентов с положительной динамикой через 12 мес. в 65% случаях отмечался полный цитогенетический ответ (ПЦО) и частичный молекулярный ответ (МО), через 24 мес. ПЦО и полный молекулярный ответ (ПМО), на проводимую терапию. Через 12 мес. после достижения ПЦО и ПМО в 25% случаях наблюдался молекулярный рецидив, в 10% случаях цитогенетический и молекулярный рецидив без клинических проявлений и в 12% случаях отмечался клинико-гематологический, цитогенетический и молекулярный рецидив.

У двух пациентов с дупликацией Ph-хромосомы и у одного с единичной Ph-хромосомой наблюдалась резистентность к ингибиторам BCR/ABL тирозинкиназы.

При достижении ПЦО и ПМО молекулярный мониторинг пациентам рекомендовано проводить не позднее чем через 3 мес. для раннего выявления возможного рецидива.

### Молекулярно-генетические предикторы безопасной отмены таргетной терапии хронического миелоидного лейкоза на основе полноэкзомного анализа

Смирнихина С.А.<sup>1</sup>, Лавров А.В.<sup>1,3</sup>, Адильгереева Э.П.<sup>1</sup>, Чельшева Е.Ю.<sup>2</sup>, Шухов О.А.<sup>2</sup>, Туркина А.Г.<sup>2</sup>, Куцев С.И.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1  
smirnikhinas@gmail.com

<sup>2</sup> ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, 125167, Москва, Новый Зыковский проезд, д. 4

<sup>3</sup> ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1

Использование таргетной терапии ингибиторами тирозинкиназы (ИТК) позволяет добиться большого молекулярного ответа более чем у 50% пациентов с хроническим миелоидным лейкозом (ХМЛ). Однако, несмотря на достижение глубокой длительной ремиссии, пациенты вынуждены пожизненно принимать ИТК. Первые исследования показали, что через 12 мес. после отмены терапии вероятность сохранения молекулярной ремиссии составляет 41%. Причины рецидивирования более чем у половины пациентов на сегодняшний день не изучены. С целью идентификации генов, обладающих предиктивным значением для прогнозирования безрецидивного прекращения терапии при ХМЛ, проведено экзомное секвенирование на платформе PGM Ion Torrent (Life Technologies) образцов ДНК из периферической крови 6 пациентов со стабильной длительной глубокой молекулярной ремиссией (BCR-ABL менее 0,01%IS в течение 12 мес.) перед отменой терапии. Через 24 месяца после отмены терапии пациенты были разделены на 2 группы: с рецидивом (BCR-ABL более 0,1%IS, n = 3) и без него (n = 3). С помощью биоинформатической обработки полученных результатов в группе пациентов с рецидивом выявлен 371 общий для этой группы вариант, не встречающийся в другой группе, в группе без рецидива — 366 общих уникальных вариантов. С использованием Variant Effect Predictor (Ensembl project) и индексов SIFT и PolyPhen (индексы, характеризующие патогенность варианта) удалось выявить наиболее перспективные для дальнейшего изучения варианты. В группе с рецидивом интерес представляет ген *SPIN1*, мутации в котором ассоциированы с онкологическими заболеваниями. В группе пациентов без рецидива изменения выявлены в гене *MAP2K3*, вовлеченном в канцерогенез, *WDR5*, ассоциированном с лейкемией, и *CASC5*, экспрессия которого повышается в различных опухолевых клетках, а aberrации с вовлечением этого гена являются маркерными при остром миелоидном лейкозе. Наиболее экзотные варианты являются потенциальными маркерами сохраняющейся ремиссии или рецидива у пациентов с ХМЛ, получающих терапию ИТК.

### Клональная гетерогенность при Rh-негативном остром лимфобластном лейкозе

Смирнова С.Ю., Сидорова Ю.В., Паровичникова Е.Н., Рыжикова Н.В., Судариков А.Б.

ФГБУ «Гематологический научный центр» МЗ РФ, Москва, Новый Зыковский пр-д, 4а  
smirnova-s-ju@yandex.ru

Нестабильность клонального состава популяции опухолевых клеток при острых лимфобластных лейкозах усложняет

процесс контроля минимальной остаточной болезни и эффективности терапии по установленным в дебюте заболевания пациент-специфичным мишеням. Данная работа направлена на изучение клональной гетерогенности при Rh-негативном ОЛЛ.

У шести пациентов проведено исследование T и B-клеточной клональности по генам *IG* (тяжелых и легких цепей) и *TCR* (дельта, гамма и бета цепей) в дебюте и в рецидиве заболевания. Клональные реаранжировки выявляли при помощи метода ПЦР по протоколу BIOMED-2 с последующим проведением фрагментного анализа.

Всего выявлено 22 клональные реаранжировки генов *TCR* и 8 клональных реаранжировок генов *IG*. У двух пациентов отмечена потеря одной из клональных реаранжировок, выявленных в дебюте заболевания, при одновременном появлении новых реаранжировок. У одной пациентки клональные реаранжировки, выявленные в дебюте заболевания полностью совпали с клональными реаранжировками в рецидиве. У двух пациентов при полном сохранении клональных перестроек, выявленных в дебюте заболевания, отмечалось появление нескольких новых реаранжировок. У одного пациента в рецидиве заболевания отмечено сохранение только двух из семи реаранжировок, выявленных в дебюте.

У пяти из шести (83%) пациентов отмечалось несоответствие клональных реаранжировок дебюта и рецидива заболевания, что говорит о клональной нестабильности на фоне проводимой полихимиотерапии. Клональное разнообразие может являться одним из механизмов опухолевой прогрессии. Возможно, изначально существует сложный генетически неоднородный состав опухолевых клеток и, в то время как одни клоны исчезают под воздействием полихимиотерапии, другие, не распознанные из-за недостаточной чувствительности метода, приобретают способность к пролиферации.

### T-клеточная клональность при аутоиммунной гемолитической анемии

Смирнова С.Ю., Цветаева Н.В., Никулина О.Ф., Бидерман Б.В., Никулина Е.Е., Сидорова Ю.В., Судариков А.Б.

ФГБУ «Гематологический научный центр» МЗ РФ, Москва, Новый Зыковский пр-д, 4а  
dusha@blood.ru

Патогенез аутоиммунной гемолитической анемии (АИГА) связан с образованием антител к собственным антигенам эритроцитов и аутоиммунным гемолизом. На мышиных моделях доказано непосредственное участие T-лимфоцитов в патогенезе АИГА. Данная работа направлена на изучение клональных популяций T-лимфоцитов у пациентов с АИГА.

В работу включены 27 пациентов с диагнозом АИГА. В качестве контроля были взяты пациенты с другими анемиями (n = 13) и здоровые доноры (n = 20). Определение T-клеточной клональности проводили по реаранжировкам генов  $\gamma$  и  $\beta$  цепей T-клеточного рецептора (*TCRG* и *TCRB*) при помощи метода ПЦР BIOMED-2 с последующим фрагментным анализом. У четырех пациентов изучена клональность субпопуляций T-лимфоцитов (CD4+, CD8+, CD4+25+).

При оценке T-клеточной клональности по реаранжировкам генов *TCRG* и *TCRB* (48,5% и 45,5%) у больных с АИГА выявлен достоверно высокий уровень клональных T-лимфоцитов по сравнению с группой контроля. Динамическое исследование пациентов с выявленной T-клеточной клональностью показало, что клональные T-лимфоциты сохраняются независимо от уровня гемоглобина, определяются как в период ремиссий, так и обострений, не исчезают после проводимой терапии и клинического улучшения (срок наблюдения 1—10 лет). Связь T-клеточной клональности с полом, возрастом, длительностью, тяжестью заболевания, спленэктомией не найдена. Исследование клональности в различных популяциях T-лимфо-

цитов показало, что клональные лимфоциты принадлежат к CD8+ Т-лимфоцитам.

Отсутствие положительной корреляции частоты обнаружения Т-клеточных CD8+ клонов с течением заболевания, его тяжестью, длительностью, уровнем гемоглобина, свидетельствуют об отсутствии прямой связи данных клонов с аутоиммунным процессом. Мы предполагаем, что персистенция иммунных клонов может опосредовано поддерживаться аутоиммунным процессом, однако данные клоны не принимают участия в развитии и поддержании гемолиза. Наличие клональности у большого процента (48,5%) пациентов с АИГА не должно расцениваться клиницистами как наличие Т-клеточной опухоли, однако требует наблюдения.

## Полиморфизм гена *GPx Pro198Leu* и хромосомные aberrации в условиях сверхнормативного воздействия радона

**Соболева О.А., Минина В.И.**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт экологии человека СО РАН,  
г. Кемерово, пр. Ленинградский, 10  
soboleva.olga88@yandex.ru

Генетические основы индивидуальной чувствительности человека к радиационному воздействию в настоящее время изучены крайне слабо. Особую значимость здесь приобретают гены ферментов антиоксидантной системы (АОС), одним из которых является *GPx*, осуществляющий детоксикацию перекиси водорода путём восстановления её до воды.

Было обследовано 301 чел. (дети и подростки, 8—17 лет), постоянно проживающий в школе-интернате г. Таштагол Кемеровской области и подвергающийся избыточному  $\alpha$ -излучению за счёт сверхнормативного воздействия радона. Контрольную группу составили 186 условно здоровых детей-подростков (8—17 лет), не контактирующих с радиационными и другими мутагенами в местах проживания (села региона). Генотоксические эффекты в лимфоцитах крови изучали с помощью метода учёта хромосомных aberrаций (ХА). Генотипирование нуклеотидной замены *GPx Pro198Leu* проводили методом real-time PCR.

Выявлено значимое увеличение частоты ХА у воспитанников школы-интерната  $4,73 \pm 0,15$  по сравнению с контрольной группой  $2,80 \pm 0,12$  ( $p < 0,0001$ ), что показывает существование выраженного генотоксического воздействия радона на организм человека. У детей г. Таштагол носителей гомозиготного генотипа по аллелю 198 Leu (генотип Leu/Leu) была зафиксирована наивысшая частота ХА среди всех вариантов генотипов гена *GPx* и составила  $5,41 \pm 0,45$ , что достоверно выше частоты ХА у гетерозиготных доноров (частота ХА для генотипа Pro/Leu составила  $4,33 \pm 0,24$ )  $p = 0,04$ . Известно, что у носителей минорного аллеля 198 Leu ферментативная активность глутатионпероксидазы на 40% ниже, чем у носителей аллеля дикого типа 198 Pro, и, как следствие, ниже способность к нейтрализации перекисных радикалов и активных форм кислорода, образующихся под воздействием радона. В контрольной группе модифицирующего влияния полиморфизма гена *GPx* на частоту ХА у детей выявлено не было. Таким образом, унаследованные варианты гена *GPx* оказывают свое влияние на частоту ХА на фоне воздействия сверхнормативных доз радона.

## Реконструкция предкового гаплотипа с мутацией сайта сплайсинга с.-23+1G>A гена *GJB2* в некоторых популяциях Евразии

**Соловьев А.В.<sup>1</sup>, Барашков Н.А.<sup>1,2</sup>, Терютин Ф.М.<sup>1,3</sup>,  
Бады-Хоо М.С.<sup>4,5</sup>, Пшенникова В.Г.<sup>1,2</sup>, Кларов Л.А.<sup>1,3</sup>,  
Романов Г.П.<sup>1</sup>, Готовцев Н.Н.<sup>1</sup>, Кожевников А.А.<sup>3</sup>,  
Васильева Л.М.<sup>6</sup>, Федотова Э.Е.<sup>6</sup>, Морозов И.В.<sup>7,8</sup>**

**Бондарь А.А.<sup>7</sup>, Соловьева Н.А.<sup>1,2</sup>, Рафаилов А.М.<sup>1</sup>,  
Сазонов Н.Н.<sup>1</sup>, Алексеев А.Н.<sup>9</sup>, Джемилева Л.У.<sup>10</sup>,  
Хуснутдинова Э.К.<sup>10,11</sup>, Посух О.Л.<sup>5,8</sup>,  
Федорова С.А.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», г. Якутск

e-mail: nelloann@mail.ru

<sup>2</sup> ФГБНУ «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем», г. Якутск

<sup>3</sup> ГБУ РС(Я) «Республиканская больница №2 — Центр экстренной медицинской помощи», г. Якутск

<sup>4</sup> ГБУЗ РТ «Республиканская больница №3», г. Кызыл

<sup>5</sup> ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

<sup>6</sup> ГБУ РС(Я) «Республиканская больница №1 — Национальный центр медицины», г. Якутск

<sup>7</sup> ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск

<sup>8</sup> ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, г. Новосибирск

<sup>9</sup> ФГБУН Институт гуманитарных исследований и проблем малочисленных народов Севера СО РАН, г. Якутск

<sup>10</sup> ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, г. Уфа

<sup>11</sup> ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», г. Уфа

В настоящее время известно, что мутация сайта сплайсинга с.-23+1G>A (IVS1+1G>A) является одной из частых мутаций в гене *GJB2* у пациентов с врождённой глухотой в ряде популяций Восточной Европы [Seeman et al., 2004; Pollak et al., 2006; Toth et al., 2009; Sansovic et al., 2009; Близнец и др., 2012; Minarik et al., 2012; Shubina-Oleinik et al., 2014], Кавказа [Божкова и др., 2008; Близнец и др., 2012], Ближнего Востока [Sirmaci et al., 2006; Bonyadi et al., 2011; Alkowiari et al., 2012; Zeinali et al., 2014], Центральной Азии [Tekin et al., 2010], Южной [Бады-Хоо и др., 2014] и Восточной Сибири [Barashkov et al., 2011]. Ранее, с применением 8 STR-маркёров, фланкирующих участок гена *GJB2*, было показано, что на территории Якутии данная мутация распространилась в результате эффекта основателя [Barashkov et al., 2011]. Для сравнительного анализа гаплотипов с с.-23+1G>A с другими популяциями Евразии (Монголия и Турция) были использованы 9 SNP-маркёров: rs1932429, rs5030702, rs7987144, rs7994748, rs4769974, rs2274084, rs2274083, rs11841024 и rs2313477, фланкирующих участок гена *GJB2* на расстоянии ~13,4 т.п.н., которые ранее были использованы в работе [Tekin et al., 2010]. Обобщённая выборка была представлена 126 индивидами, гомозиготными по мутации с.-23+1G>A: якуты (n = 111), тувинцы (n = 6), монголы (n = 4), турки (n = 3), эвенки (n = 1) и русские (n = 1). В исследованной выборке было выявлено пять различных гаплотипов, причём наибольшее разнообразие было обнаружено у монголов (4 гаплотипа) и якутов (3 гаплотипа). В результате реконструкции гаплотипов с мутацией с.-23+1G>A на основе анализа аллельного разнообразия 9 SNPs был выявлен мажорный гаплотип — CAGACCATG, присутствующий на большинстве исследованных хромосом пациентов, гомозиготных по данной мутации: 100% — у тувинцев, турок, русского и эвенка, 99% — у якутов и 67% — у монголов. Полученные результаты могут свидетельствовать в пользу единого происхождения мутации сайта сплайсинга с.-23+1G>A гена *GJB2* на территории Евразии.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ №14-04-01741\_а, №15-44-05106\_р-восток\_а, №14-04-90010\_Бел\_а, проекта Министерства образования и науки РФ ГК №6.656.2014/К, интеграционного проекта СО РАН №92 и гранта Ил Дархана Республики Саха (Якутия) для молодых ученых, специалистов и студентов на 2015г. (РГН№76 от 06.02.2015).



## Необходимость преподавания основ геномной и персонализированной медицины при изучении курса медицинской генетики

Солодилова М.А., Полоников А.В.,  
Бушуева О.Ю., Иванов В.П.

ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет»  
МЗ РФ  
Курск, Карла Маркса, д.3  
e-mail: solodilovama@gmail.com

Внедрение принципов персонализированной медицины в клиническую практику является одной из приоритетных задач, стоящих сегодня перед российским здравоохранением. Развитие этого направления зафиксировано в «Стратегии развития медицинской науки в Российской Федерации на период до 2025 г. В основе современной персонализированной медицины лежит интегрированный подход, включающий в себя генетическое тестирование на предрасположенность к болезням, рекомендации по индивидуализированной профилактике и подбору максимально эффективных и безопасных лекарственных препаратов. Стремительное развитие геномики, протеомики и метаболомики диктуют необходимость интеграции потока новых знаний в клиническое мышление врачей, без освоения которых не может состояться как профессионал высокой квалификации любой врач независимо от его специальности. В типовой программе по медицинской генетике для медицинских вузов, к сожалению, фактически не отражены разделы геномной и персонализированной медицины, в то время как данные направления достаточно активно развиваются в Российской Федерации.

С целью формирования компетентного подхода к подготовке будущих врачей в Курском государственном медицинском университете преподаются курсы медицинской генетики и клинической генетики. Курс медицинской генетики преподаётся в соответствии с типовой рабочей программой. Дефицит знаний студентов в области геномной и персонализированной медицины частично восполняется курсом клинической генетики, который ориентирован на изучение генетических основ распространённых мультифакториальных заболеваний, с которыми будущие врачи сталкиваются ежедневно. Учитывая то, что такой курс отсутствует в других медицинских вузах России и проблемы геномной и персонализированной медицины практически не предусмотрены Федеральным государственным образовательным стандартом необходимо рассмотрение вопроса об увеличении объёма часов для преподавания студентам основ геномной и персонализированной медицины в рамках курса медицинской генетики.

## Перспективы использования многофункциональных биобанков для исследований в проблемном поле генетики человека

Солопкин Н.В.<sup>1</sup>, Балаганская О.А.<sup>2</sup>, Лавряшина М.Б.<sup>1</sup>,  
Дамба Л.Д.<sup>3,2</sup>, Богунов Ю.В.<sup>2</sup>, Богунова А.А.<sup>4</sup>,  
Балановская Е.В.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВПО Кемеровский государственный университет,  
г. Кемерово, ул. Красная, 6  
nikolai\_solopeki@mail.ru

<sup>2</sup> ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова,  
Москва, ул. Губкина, 3

<sup>3</sup> ГБУЗ РТ Перинатальный центр Республики Тыва,  
г. Кызыл, ул. Оюна Курседа, 159 а

<sup>4</sup> ФГБУН Медико-генетический научный центр,  
Москва, ул. Москворечье, 1

Обсуждаются возможности использования многофункциональных биобанков на примере сформированных в ходе исследова-

ований 2004—2015 гг. коллекций биологических образцов коренного населения Сибири и Дальнего Востока. Биобанк уже включает около 2000 (коллекции постоянно пополняются) детально документированных биологических образцов представителей коренных народов Южной Сибири (Алтай: алтай-кижи, кумандинцы, теленгиты, тубалары, челканцы; Тывы: тувинцы, тувинцы-тоджинцы; Хакасии: качинцы, койбалы, сагайцы; Горной Шории: шорцы), Западной Сибири (5 субэтнических групп сибирских татар) и Дальнего Востока (нанайцы, ульчи, нивхи, эвенки).

Сформированный биобанк уже служит основой для разноплановых исследований в проблемном поле генетики человека, включая вопросы миграции коренного населения и путей его формирования (по данным анализа аутосомных ДНК маркёров — ALU-полиморфизм и Y-хромосомы — SNP и STR маркёры), проблем генетической адаптации популяций к природным, социальным и антропогенным факторам окружающей среды (по данным исследований генов биотрансформации ксенобиотиков I и II, метаболическим маркёрам и генов репарации ДНК), исследование подверженности коренного населения заболеваниям мультифакториальной природы (по данным анализа аутосомных ДНК маркёров — полиморфизм генов интерлейкинов).

Суммарно протестированная в междисциплинарных исследованиях панель включала более 40 генных локусов и более 100 аллельных вариантов. В докладе перспективы использования биобанка будут показаны на примере популяционного скрининга социально значимых генов биотрансформации этанола (*ADH1B*, *ALDH2*, *CYP2E1*).

Исследование выполнено при поддержке грантов РФФИ 13-06-00670 а, 13-06-98014 р, 14-06-00384 а, 15-34-50419 мол-нр, 15-36-50565 мол-нр

## Использование фамилий для популяционно-генетического анализа населения Центральной России

Сорокина И.Н., Евдокимов В.И., Крикун Е.Н.

ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», кафедра медико-биологических дисциплин  
308015, г. Белгород, ул. Победы 85, sorokina@bsu.edu.ru

Цель работы — изучить структуру генофонда населения Центральной России по данным о распределении фамилий.

Проанализировано распределение фамилий среди 1 064 987 чел. в 30 районах 7 областей Центральной России общей численностью 1 млн 388,4 тыс. чел. Рассмотрена популяционная система населения на различных иерархических уровнях организации популяции:

- 1) уровень элементарной популяции (район);
- 2) областной уровень — множество рядом расположенных элементарных популяций одной области (20 районов Белгородской области);
- 3) региональный уровень (30 районов 7 областей Центральной России).

С использованием фамилий избирателей описана структура генофонда населения Центральной России. Анализ показателей внутренней подразделённости элементарных популяций, рассчитанных по фамилиям избирателей, выявил их выраженную территориальную вариабельность как на уровне всего региона  $0,00002 < f_r^* < 0,00092$ , так и на уровне одной области  $0,00007 < f_r^* < 0,00125$ , причём размах изменчивости показателя инбридинга на областном уровне полностью сопоставим с аналогичными данными на региональном уровне. Среди факторов, определяющих различия в уровне инбридинга населения, как на областном, так и на региональном уровне организации популяции важное значение имеют численность населения, количество фамилий в элементарной популяции, степень её

урбанизации и миграционная активность. Установлено, что телефонные справочники являются новым источником получения информации о фамилиях для популяционно-генетического анализа населения Центральной России, а фамилии телефонных абонентов позволяют корректно оценивать как уровень случайного инбридинга среди населения и выявлять значимое влияние на него факторов популяционной динамики, так и в целом описывать «генетический ландшафт» элементарных популяций Центральной России.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РГНФ №14-16-31010 «Изучение структуры генофонда населения Белгородской области и его места в системе русского генофонда Центральной России (по данным антропоники)»*

## Патология репродуктивной системы у мужчин с муковисцидозом

**Сорокина Т.М., Черных В.Б., Шилейко Л.В., Степанова А.А., Поляков А.В., Курило Л.Ф.**

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

Мутации гена *CFTR* являются причиной классических и атипичных форм муковисцидоза (МВ). Нарушение функции кодируемого им белка у мужчин часто приводит к бесплодию из-за обструктивной азооспермии, обусловленной недоразвитием вольфовых протоков и непроходимостью семявыносящих путей. Агенезия, аплазия семявыносящих протоков (*vas deferens*) может быть одно- или двусторонней (синдромы *CUAVD* и *SBAVD* соответственно). Для стертых, атипичных форм МВ характерны «мягкие» мутации и генотипы, в частности аллель *5T (IVS8-5T)* — полиморфизм, являющийся мягкой, варьирующей мутацией. Некоторые случаи *SBAVD* не связаны с *CFTR* мутациями, а большинство пациентов с *CUAVD* их не имеет. Пороки развития Вольфовых протоков у них часто сопровождаются агенезией или аплазией ипсилатеральной почки.

Обструкция семявыносящих путей отмечена у 70—75% мужчин с классической формой МВ, при этом выявляют азооспермию или криптозооспермию. Для них также характерна олигоспермия (объема эякулята менее 1,5 мл), а также рН < 7,0, низкая или неопределяемая концентрация фруктозы. Практически у всех обследованных нами мужчин с МВ в эякуляте выявлены половые клетки. Это подтверждает частичную проходимость семявыносящих путей, а также свидетельствует о том, что обструкция возникает не в результате отсутствия (агенезии), а аплазии/гипоплазии *vas deferens*. У остальных 25—30% молодых мужчин с МВ проходимость семявыносящих путей сохранена, не отмечено олигоспермии и снижения рН эякулята, а концентрация сперматозоидов составляла от 7,2 до 158 млн/мл; у половины из них выявлена астено- или тератозооспермия. Среди мужчин с МВ без обструкции семявыносящих путей чаще отмечены сохранность функции поджелудочной железы и умеренно тяжёлые генотипы, часто с мутацией *3849+10kbC>T*, характерной для легочной формы МВ. При количественном кариологическом анализе незрелых половых клеток (НПК) из эякулята у мужчин с МВ выявлены признаки нарушения сперматогенеза на допахитенных стадиях профазы I мейоза, увеличение количества двухядерных сперматид, дегенерирующих НПК и атипичных сперматозоидов. Электронная микроскопия сперматозоидов позволила выявить в них различные ультраструктурные нарушения: высокое количество гамет с незрелым хроматином, уменьшенный размер акросомы, снижение количества гамет с нормальными головками и акросомой, аморфные головки, цитоплазматическая капля на головке или шейке.

## Полиморфизм *APOE* в рамках изучения явления долгожительства в Абхазии

**Спицын В.А.<sup>1</sup>, Макаров С.В.<sup>1</sup>, Квеквескири К.Б.<sup>2</sup>, Самохин А.С.<sup>1</sup>, Бец Л.В.<sup>3</sup>, Бычкова Л.С.<sup>1</sup>, Спицына Н.Х.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> *ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва, ул. Москворечье, 1  
e-mail: ecolab@med-gen.ru*

<sup>2</sup> *Абхазский государственный университет; Государственное учреждение Институт экологии АН Абхазии, г. Сухум*

<sup>3</sup> *Московский государственный университет, биологический факультет, кафедра антропологии; Москва*

<sup>4</sup> *ФГБУ «Институт этнологии и антропологии» РАН, Москва*

Ярко выраженный феномен активного долголетия в Абхазии и ряде других регионах Кавказа вновь привлекает внимание врачей и биологов в связи обнаружением полиморфных генов, ответственных за эффект большой продолжительности жизни. В работе представлен анализ образцов ДНК из буккального эпителия от жителей различных регионов Абхазии. Собранный в 2013 г. материал был сгруппирован в две выборки:

- а) лица старшей возрастной группы (от 75 лет до 101 года);
- б) контрольная выборка средней по возрасту когорты (от 16 до 33 лет).

Был исследован полиморфизм гена аполипопротеина Е (*APOE*) (OMIM +107241), ассоциирующихся с эффектом продолжительности жизни в других популяциях ойкумены. Среди многих болезней, связанных с определёнными генотипами *APOE*, носители аллеля *APOE\*4* характеризуются повышенным риском развития сердечно-сосудистой патологии. Для абхазских долгожителей установлены частоты аллелей *APOE\*3* и *APOE\*4* как 0,9359 и 0,0128 соответственно, в контроле — 0,8315 и 0,0815 соответственно. Различия между сопоставляемыми когортами исследуемых как по частотам генотипов, так и по концентрациям аллелей оказались достоверными (при  $\chi^2 > 10$  и 8 соответственно и  $p < 0,05$ ). Частоты аллеля *APOE\*2* оказываются статистически подобными для обеих выборок. Результаты подтверждают ранее наблюдавшийся факт возрастания частоты в группе долгожителей наиболее распространённого (в популяциях) аллеля и снижения пропорций редких аллелей. Показано, что генотип *APOE 4-4* и, соответственно, аллель *APOE\*4* представляются неблагоприятными для достижения индивидами возраста долгожительства. Напротив, для увеличения продолжительности жизни благоприятным представляется аллель *APOE\*3* и генотипы, определяемые этим аллелем.

## Сравнительный анализ эффектов репродукции в западной группе бурят

**Спицына Н.Х., Спицын В.А., Балинова Н.В.**

*ФБГУН «Институт этнологии и антропологии РАН им. Н.Н. Миклухо-Маклая»  
Москва, Ленинский проспект 32А; e-mail: nailya.47@mail.ru*

В кратком сообщении представлены результаты сравнительного анализа биодемографических характеристик западных бурят (с. Гаханы, Байтог, Муромцовка, Хабаровск Агинского района Забайкальского края) по всему спектру сравниваемых признаков за прошедшее время генетического полупоколения (1987—1988 гг. и 2013—2014 гг.). Осуществлен антропогенетический анализ с использованием современных популяционно-генетических моделей и методов исследования (Stow J.F., 1958; Cavalli-Sforza L.L., Bodmer W.F., 1971; Johnston F.E., Kessinger K.M., 1971; Ли Ч., 1978; Nei M., 1983). Вычислены основные параметры популяционной структуры в группах бурят, выявлены особенности воспроизводства в популяциях, определе-

ны индексы эндогамии и экзогамии, определены коэффициенты инбридинга, показавшие соблюдение в популяциях традиций избегания кровнородственных браков. Результаты сравнительного анализа эффектов репродукции выявили благоприятные репродуктивные характеристики в когортах лиц завершивших индивидуальную репродукцию по всем сравниваемым параметрам: среднему числу беременностей, приходящемуся на одну женщину, числу детей, а также низким величинам отягощённости акушерской патологией. В 1987—1988 гг. в группах проявляется действие смешанного типа репродукции: характер воспроизводства расширенный; среднее число рождённых детей 4,530; варианса 5,6963; индексы потенциального отбора в пределах от 0,6519 до 1,0461. В ней также снижена доля лиц женского пола, половой индекс равен 1.14.

В 2013—2014 гг. среднее число рождённых детей соответственно составило 3,5890; варианса 4,8793; индексы потенциального отбора находятся в пределах от 0,7391 до 1,5324. Результаты проведённого исследования в популяциях Бурятии выявили за прошедший период генетического полупоколения относительное возрастание вклада небиологических факторов в величину коэффициента отбора. В целом, выявлена положительная динамика произошедших микроэволюционных изменений в популяциях бурят. По всем репродуктивным параметрам в группах женщин, завершивших индивидуальную репродукцию, несмотря на возрастные показатели социальной регуляции репродукции (применение контрацептивов, аборт, прерывание беременности), параметры демографической структуры популяций бурят отличаются относительной устойчивостью в пространстве и времени.

### **Влияние семакса и его С-концевого пептида PGP на экспрессию транскриптов гена *Cplx2* в условиях фокальной ишемии мозга крыс**

**Ставчанский В.В., Куриченко Е.О., Дмитриева В.Г., Лимборская С.А., Мясоедов Н.Ф., Дергунова Л.В.**

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики Российской академии наук 123182, Москва, пл. ак. И.В. Курчатова, д. 2 bacbac@yandex.ru*

Комплексины — семейство небольших цитозольных белков, которые регулируют высвобождение нейротрансмиттера путём экзоцитоза. Существует два типа комплексинов — Cplx1 и Cplx2, которые представлены в ингибирующих и возбуждающих синапсах соответственно. Ранее нами была уточнена структурная организация гена комплексина 2 (*CPLX2*) расположенного на 5 хромосоме человека. Обнаруженные альтернативные варианты транскриптов этого гена у человека (*CPLX2\_v1* и *CPLX2\_v2*) отличаются 5'-нетранслируемой областью и имеют высокое сходство с аналогичными транскриптами у крыс (*Cplx2\_v1* и *Cplx2\_v2*). Изменение экспрессии гена *Cplx2* при ишемии изучено недостаточно, хотя известно, что глутаматная эксайтотоксичность частично обеспечивается высвобождением глутамата в составе синаптических везикул. Принимая во внимание тот факт, что белок *CPLX2* участвует в развёртывании глутаматной эксайтотоксичности и других нарушениях, связанных с экзоцитозом активных молекул, представлялось важным исследовать особенности экспрессии транскриптов *Cplx2\_v1* и *Cplx2\_v2* в условиях экспериментальной фокальной ишемии мозга крыс и под воздействием препарата семакс (синтетический аналог фрагмента АКТИ(4-7) — Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly) и его С-концевого фрагмента PGP. Было показано, что под воздействием экспериментальной ишемии относительное содержание обоих транскриптов гена *Cplx2* в коре головного мозга спустя сутки после окклюзии снижается в 2 раза. При этом влияния ишемии на содержание мРНК гена *Cplx2* в подкорковых структурах не обнаружено. Оба исследуемых пептида вызывают снижение содержания

мРНК гена *Cplx2* в коре головного мозга крыс спустя 72 часа после окклюзии, при этом эффект PGP оказывается более выраженным, чем эффект семакса. Влияния препаратов на экспрессию гена в подкорковых структурах мозга не наблюдается. В условиях эксперимента характер изменений уровня экспрессии альтернативных транскриптов гена *Cplx2* полностью совпадает, что, по-видимому, указывает на их значительное функциональное сходство.

### **Проблемы эволюционной медицины**

**Степанов В.А.**

*ФГБУ «Научно-исследовательский институт медицинской генетики» 634050, Наб. Ушайки 10, Томск, Россия vadim.stepanov@medgenetics.ru*

Эволюционно-генетический взгляд на проблему возникновения и распространения в современных популяциях человека заболеваний мультифакторной природы является одним из перспективных подходов к выявлению молекулярных механизмов заболеваний и поиску «упущенной наследуемости». Концепции эволюционной медицины активно обсуждаются в современной литературе. Предлагаются гипотезы, описывающие роль микроэволюционных факторов (прежде всего, естественного отбора) в формировании подверженности распространённым болезням в современных популяциях, как в ходе глобальных изменений среды обитания при расселении современного человека из Африки, так и в ходе адаптации к локальным условиям. Изучается и роль изменений генома в ходе эволюции гоминид за последние 5—6 миллионов лет в формировании генетических основ некоторых распространённых болезней человека — например, репродуктивных нарушений и иммунного ответа на инфекционные агенты. Выявлено некоторое число орфанных генов человека (генов, отсутствующих у современных обезьян и возникших в эволюционной линии человека). Показано, что некоторые из них вовлечены в механизмы, определяющие подверженность ряду частых хронических болезней. Таким образом, исследования особенностей генетического разнообразия на межпопуляционном либо на межвидовом уровне в контексте поиска генетических маркёров заболеваний и их эволюционно-генетического происхождения формируют содержание современной эволюционной медицины. Предполагается, что эволюционные подходы к генетике болезней дадут новую информацию как о генетической компоненте (новые гены и генетические маркёры), так и о причинах и механизмах болезней человека. Население России и сопредельных регионов, характеризующееся значительным генетическим разнообразием, генетической и географической дифференциацией, представляет собой хорошую модель для выявления сигналов адаптивной эволюции генетического разнообразия, поиска маркёров естественного отбора и деканализации геном-феномных отношений в ходе расселения человека. В докладе будет представлен обзор некоторых современных концепций эволюционной медицины и приведены собственные данные о поиске генов и генетических маркёров распространённых болезней на основе эволюционно-генетических подходов к анализу данных, генерируемых геномными и постгеномными технологиями.

### **Распределение наиболее часто встречающихся мутаций в гене *CFTR* среди детей и взрослых, больных муковисцидозом**

**Степанова А.А.<sup>1</sup>, Красовский С.А.<sup>2</sup>, Амелина Е.Л.<sup>2</sup>, Петрова Н.В.<sup>1</sup>, Поляков А.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГБУ «МГНЦ» РАМН, Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГБУ НИИ Пульмонологии ФМБА России, Москва, Россия



Муковисцидоз (МВ) — тяжёлое аутосомно-рецессивное заболевание, вызываемое мутациями в гене *CFTR*. Первые симптомы болезни у около 20% больных проявляются уже в период новорождённости в виде мекониальной непроходимости кишечника (мекониальный илеус). Диагноз другим пациентам ставится в более позднем возрасте, а симптомы заболевания могут значительно варьировать и по поражению органов (кишечная, легочная, смешанная формы) и по тяжести.

Проведено исследование ДНК больных МВ из различных регионов России для сравнения частоты встречаемости 19 мутаций: CFTRdele2,3, F508del, I507del, 1677delTA, 2143delT, 2184insA, 394delTT, 3821delT, L138ins, 604insA, 3944delTG, G542X, W1282X, N1303K, R334W и 3849+10kbC>T, S1196X, 621+1g>t, E92K гена *CFTR*, являющихся наиболее частыми на территории Российской Федерации, у детей и взрослых.

Выборку детей составили 296 пациентов, обратившихся в лабораторию ДНК-диагностики МГНЦ РАМН, для подтверждения диагноза. Выборку взрослых составили 501 больной МВ из национального регистр. Средний возраст взрослых больных составил 27 лет, средний возраст детей — 7 лет.

Наиболее частые на территории РФ мутации F508del и CFTRdele2,3 встретились в обеих выборках также с наибольшей частотой (F508del — 53,2% среди детей и 50,6% среди взрослых, CFTRdele2,3 — 6,7% среди детей и 6,5% среди взрослых) и не выявили статистических значимых различий. Мутации I507del, 2143delT, 2184insA, 394delTT, 3821delT, L138ins, 604insA, 3944delTG, G542X, W1282X, N1303K, S1196X, 621+1g>t, E92K встречались с частотой от 0 до 5,4% и также не выявили статистически значимых различий в распределении между выборками. Для четырёх мутаций: R334W, 3849+10kbC>T, W1282X и 1677delTA были обнаружены различия в распределении между выборками ( $p < 0,05$ ). Мутации W1282X и 1677delTA связаны с тяжёлым клиническим фенотипом и в выборке взрослых больных МВ встретились значительно реже, чем у детей (0,99% и 2,4% для W1282X и 0,4% и 3,2% для 1677delTA). Мутации 3849+10kbC>T и R334W относятся к IV классу мутаций в гене *CFTR* и приводят к более лёгкой форме течения заболевания, в выборке взрослых больных МВ встретились значительно чаще, чем у детей (5,8% и 1% для 3849+10kbC>T и 1,3% и 0,2% для R334W).

### Церебральная аутосомно-доминантная артериопатия с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией (ЦАДАСИЛ) у российских пациентов

*Степанова М.С., Абрамчычева Н.Ю., Федотова Е.Ю., Ключников С.А., Калашикова Л.А., Захарова М.Н., Танащян М.М., Лагода О.В., Максимова М.Ю., Сахарова А.В., Коновалов Р.Н., Иллариошкин С.Н.*

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

Церебральная аутосомно-доминантная артериопатия с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией (ЦАДАСИЛ) — наследственное сосудистое заболевание, вызванное мутациями в гене *Notch3*. Этот ген кодирует мембранный рецептор, участвующий в регуляции формирования гладкомышечной стенки артерий. Характерными проявлениями ЦАДАСИЛ являются транзиторные ишемические атаки или повторные ишемические инсульты лакунарного типа при отсутствии артериальной гипертензии и других факторов риска. Наиболее ранним признаком может быть мигрень, в дальнейшем появляются когнитивные нарушения, психиатрические расстройства и др. На МРТ выявляется комбинация лакунарных инфарктов различной локализации с диффузно-очаговыми изменениями белого вещества. Известно более 200 мутаций

гена *Notch3*, большинство из которых расположено в экстрацеллюлярном домене (экзоны 2—23), при этом наиболее часто мутации выявляются 4-м экзоне.

Обследовано 30 неродственных пациентов с предположительным диагнозом ЦАДАСИЛ. Методом прямого секвенирования на генетическом анализаторе ABI Prism 3130 (Applied Biosystems) был проведён мутационный скрининг экзонов 2—23 гена *Notch3*. Патогенность найденных мутаций оценивалась при помощи алгоритмов SIFT и PolyPhen2. Оценка частоты встречаемости найденных мутаций проводилась на 180 образцах ДНК контрольной группы.

Было обнаружено 16 различных мутаций у 18 неродственных пациентов, включая 4 новые миссенс-мутации (C194G, V252M, C338F, C484G). Все найденные мутации, кроме двух (V252M, V322M), затрагивали число цистеиновых остатков белка, что типично для ЦАДАСИЛ. «Нецистеиновая» новая мутация V322M была оценена по алгоритмам SIFT и PolyPhen2 как патогенная, что было подтверждено результатами биопсии кожи (наличие характерных для ЦАДАСИЛ гранулярных осмиофильных включений в гладкомышечных клетках). При довольно сильной вариабельности клинической картины корреляции между клиническими симптомами и типом мутации не наблюдалось. Показана важная диагностическая роль выявления таких МРТ-феноменов, как гиперинтенсивные сигналы в передних отделах височных долей и в области наружной капсулы.

*Работа поддержана грантом РФФИ(№13-04-01718а).*

### Врождённые мутации у больных спорадическим раком молочной железы

*Стрельников В.В.<sup>1,3\*</sup>, Танас А.С.<sup>1,3</sup>, Кузнецова Е.Б.<sup>1,3</sup>, Алексеева Е.А.<sup>1,3</sup>, Поддубская Е.В.<sup>2</sup>, Керимов Р.А.<sup>2</sup>, Залтаев Д.В.<sup>1,3</sup>*

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр»,  
Москва, 115478, ул. Москворечье, д.1

\* E-mail: vstrel@list.ru

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина»,  
Москва, 115478, Каширское ш., д.24

<sup>3</sup> ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

Рак молочной железы (РМЖ) — заболевание с генетической предрасположенностью. На сегодняшний день известно несколько генов (*BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*, *CHEK2*, *ATM*, *P TEN*, *MSH1*, *NBS1* и др.), врождённые мутации которых формируют предрасположенность к РМЖ. Выявление новых генов предрасположенности позволит повысить качество медико-генетического консультирования в онкологии.

Цель работы: на основе секвенирования широкой панели генов, вовлечённых в опухолеобразование, выявить врождённые мутации у больных спорадическим РМЖ.

20 образцов периферической крови больных РМЖ исследованы методом высокопроизводительного параллельного секвенирования экзонов 411 генов, вовлечённых в опухолеобразование, на приборе Ion Torrent PGM.

Врождённые мутации обнаружены в 42 генах из 411 исследованных: *BRCA1*, *MTOR*, *RECQL4*, *ARID2*, *ARID1A*, *LRP1B*, *FGFR3*, *FGFR4*, *MUTYH*, *MTR*, *BCL11A*, *FANCD2*, *TET2*, *FOX P4*, *ESR1*, *SAMD9*, *PIK3C2B*, *PIK3CG*, *SMO*, *KMT2C*, *KAT6A*, *KMT2D*, *PTPRT*, *FGFR3*, *JAK2*, *TSC1*, *TP53*, *RNF213*, *KDM6A*, *ERBB3*, *DST*, *PMS1*, *LPP*, *TLR4*, *TLX1*, *SUFU*, *TRIP11*, *MYH11*, *CDH11*, *BRIPI1*, *SEPT9*, *AMER1*. Все генетические варианты представляют собой миссенс-мутации в гетерозиготном состоянии. Ни одной из выявленных мутаций ранее не было описано ни в исследованиях соматических мутаций в злокачественных опухолях, ни при анализе генов предрасположенности к онкозаболеваниям. Большинство белков, кодируемых генами

с найденными в настоящем исследовании мутациями, входят в кластеры взаимодействий, соответствующих либо системе регуляции клеточного цикла (*BCL11A*, *FOXPA*, *ESR1*, *PIK3CG*, *KAT6A*, *FGFR3*, *TSC1*, *TP53*, *ERBB3*), либо системе репарации поврежденных ДНК (*BRC1A*, *BRIP1*, *FANCD2*). Также наблюдается значительное обогащение выборки генами, кодирующими ферменты посттрансляционной модификации гистонов и ремоделинга хроматина (*ARID2*, *ARID1A*, *KMT2C*, *KAT6A*, *KMT2D*, *KDM6A*). Врожденные мутации в генах этой группы ранее не изучались с точки зрения ассоциации с риском развития злокачественных новообразований.

### Способность клеток с нерепарированными повреждениями ДНК и хромосом преодолевать контрольные точки митотического цикла

Стукалов С.В.<sup>1</sup>, Кузин С.М.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Медико-генетический научный центр, Москва, ул. Москворечье, д. 1. [stukalov@med-gen.ru](mailto:stukalov@med-gen.ru)

<sup>2</sup> Московский государственный медико-стоматологический университет, Москва

В последнее время становится все более распространённым представление о контрольных точках митотического цикла, в которых задерживаются для репарации клетки с повреждениями ДНК. Остается открытым вопрос, что происходит с клетками, в которых не произошло эффективной репарации и сохраняются генетические нарушения. Была проанализирована способность клеток красного костного мозга с различным количеством генетических нарушений выживать и делиться после сильного мутагенного воздействия.

В разные сроки (от 12 до 36 часа) после внутрибрюшинного введения джунгарским хомячкам тиофосамида в дозе 1,5 мкг на 1 г веса готовили цитогенетические препараты, на которых определяли сестринские хроматидные обмены (СХО) и хромосомные аберрации (ХА). Модификация методики позволила определить, какое количество митотических циклов пройдено клетками после воздействия.

Полученные результаты показали многократное повышение уровня генетических нарушений в клетках, выживших и способных делиться после мутагенного воздействия. Во всех без исключения клетках, прошедших два митотических цикла после введения тиофосамида, количество СХО превышало максимальные контрольные показатели: более 14 СХО на клетку в опыте, менее 12 в контроле (усреднённые показатели составили соответственно  $28,0 \pm 1,2$  и  $4,4 \pm 0,2$  СХО на клетку). Повреждения, индуцирующие СХО, постепенно репарируются, однако даже в третьем после воздействия митотическом цикле они существенно превышают контрольный уровень:  $4,2 \pm 0,1$  СХО на клетку за цикл в опыте,  $2,0 \pm 0,2$  — в контроле. Анализ спектра ХА, среди которых существенно возрастает доля хроматидных (однонитевых) разрывов (с 37% в контроле до 70% в опыте), также свидетельствует о сохранении в течение четырёх митотических циклов после воздействия в части клеток нерепарированных нарушений, индуцирующих новые аберрации. Несмотря на прогрессивное снижение после каждого деления, количество клеток с хроматидными аберрациями в 4-м митозе почти в 8 раз превышает контрольные показатели (0,3% и 2,3% соответственно).

Наши данные показали, что часть клеток с нерепарированными генетическими повреждениями способна преодолевать контрольные точки митотического цикла и неоднократно делиться. Снижение количества мутантных клеток и их элиминация из клеточной популяции в организме возможны посредством перевода их в терминальную дифференцировку.

### Ассоциация полиморфизма *HindIII* гена липопротеинлипазы с риском развития острого небилиарного панкреатита

Субаскаран С., Самгина Т.А., Бушуева О.Ю., Канищев Ю.В., Назаренко П.М., Полоников А.В.

Курский государственный медицинский университет, г. Курск [ssubaskaran@yahoo.com](mailto:ssubaskaran@yahoo.com)

Многочисленные зарубежные и отечественные исследования указывают на потенциальную патогенетическую связь между часто регистрируемой у больных гипертриглицеридемией и острым панкреатитом, хотя механизмы этой взаимосвязи остаются невыясненными. Известно, что ключевую роль в регуляции липидного обмена, а именно гидролизе триглицеридов, играет фермент липопротеинлипаза (LPL). Описано более 100 мутаций в гене *LPL*, существенно снижающих активность фермента, многие из которых стали объектом исследования в контексте взаимосвязи с наследственными нарушениями липидного обмена и развивающимся на их фоне острым панкреатитом. В настоящем исследовании впервые изучена ассоциация одного из наиболее частых и функционально значимых полиморфизмов гена *LPL* — *HindIII* с риском развития острого небилиарного панкреатита в популяции русских жителей Центральной России. Материалом для исследования послужили образцы ДНК, полученные от 145 неродственных больных ОНП (24 женщины и 121 мужчина) и 191 относительно здоровых индивида русской национальности (84 женщины и 107 мужчин), у которых был исключен диагноз панкреатита, находившихся на стационарном лечении в хирургических отделениях города Курска в период с 2012 по 2013 гг. Генотипирование полиморфизма *HindIII* гена *LPL* (rs320) проводилось методом ПЦР в режиме реального времени путём дискриминации аллелей с помощью TaqMan-зондов. Генотипы исследуемого полиморфизма находились в соответствии с распределением Харди—Вайнберга ( $p > 0,05$ ). Нами была установлена ассоциация аллеля Н+ (OR = 0,69; 95% CI 0,48—0,98;  $p = 0,04$ ) и генотипа Н+/Н+ (OR = 1,57; 95% CI 1,01—2,43;  $p = 0,05$ ) с развитием ОНП. Однако стратифицированный по полу анализ показал, что аллель Н+ (OR = 0,63; 95% CI 0,41—0,96;  $p = 0,03$ ) и генотип Н+/Н+ (OR = 1,79; 95% CI 1,06—3,04;  $p = 0,03$ ) ассоциирован с риском развития ОНП исключительно у мужчин.

### Применение ситуационных задач на основе реальных результатов генетического тестирования в преподавании медицинской генетики

Субботина Т.И.<sup>1</sup>, Асанов А.Ю.<sup>1</sup>, Литвинова М.М.<sup>1</sup>, Жученко Н.А.<sup>1</sup>, Филиппова Т.В.<sup>1</sup>, Рожнова Т.М.<sup>1</sup>, Балашова М.С.<sup>1</sup>, Тулузановская И.Г.<sup>1</sup>

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, кафедра медицинской генетики [subbotina@mma.ru](mailto:subbotina@mma.ru)

Качественное медицинское образование и освоение предмета на современном уровне невозможно без своевременного обновления методических материалов, используемых в процессе обучения. Проблема устаревания материалов особенно заметна в областях знаний, непосредственно связанных с развитием инновационных методов диагностики, профилактики и лечения. К такой области относится и медицинская генетика, где каждые несколько лет появляются и внедряются в практику множество новых методов.

В образовательном процессе хорошо известна и другая проблема — по материалу, представленному в учебнике, студент может быть хорошо ориентирован в отношении теоретических знаний, но прочтение и интерпретация результатов, да-

же самой несложной лабораторной генетической диагностики, вызывает затруднения.

В связи с этим, на кафедре медицинской генетики ГБОУ ВПО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова разработан новый подход, направленный на развитие клинического мышления и практических навыков у студентов. Суть подхода состоит в использовании, в качестве методических пособий, ситуационных задач, основанных на реальной клинической практике врача-генетика. При этом в условия задачи включаются результаты как молекулярно-генетической, так и цитогенетической диагностики в том виде, в каком они поступают врачу из лаборатории. Это позволяет студентам научиться чётко распознавать генотип пациентов, даёт навык интерпретации разнообразных результатов исследований. При решении задач от студентов требуется не только поставить предположительный диагноз, но и сформулировать рекомендации семье, учитывая современные возможности пренатальной и преимплантационной генетической диагностики.

Подобный подход способствует формированию у студента-медика знаний и практических навыков, актуальных в условиях работы в современном мире новых технологий.

### Изучение генов TGF-бета сигнального пути у больных интракраниальными аневризмами

**Султанова Р.И., Хусаинова Р.И., Хуснутдинова Э.К.**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Башкирский государственный университет», г.Уфа, ул. Заки Валиди, 32; r-ka\_@mail.ru

Интракраниальные аневризмы являются сложным заболеванием многофакторной природы, приводящие к высокой инвалидности и смертности. Известно относительно небольшое число генов, вовлечённых в патогенез интракраниальных аневризм, обнаружена значимость полиморфных вариантов генов, продукты которых вовлечены в сигнальные пути трансформирующего фактора роста бета, серин-треонин киназ, хемокинов, кальция, нейротрофина, участвующих в клеточном цикле, локальной адгезии, апоптозе. Однако до сих пор поиск генетических маркёров, обуславливающих развитие аневризм сосудов головного мозга, является актуальной проблемой и на современном этапе проводится активный поиск вариантов генов с более значимым вкладом в развитие заболевания. Мы провели поиск структурных изменений генов *TGF-β1* и его рецепторов (*TGFBR1* и *TGFBR2*) у больных с аневризмами артериальных сосудов головного мозга.

Материалом для исследования послужили образцы ДНК 360 больных с аневризмами мозговых сосудов и 500 практически здоровых индивидов в качестве контрольной выборки русской этнической принадлежности, проживающих в Волго-Уральском регионе. Возраст больных варьировал от 14 до 73 лет (средний возраст — 43,2 года), доля множественных аневризм составила 18,1%.

Исследование всех кодирующих областей и фланкирующих регионов генов трансформирующего фактора роста бета (*TGF-β1*) и его рецепторов (*TGFBR1* и *TGFBR2*) проведено с использованием метода SSCP-анализа с последующим секвенированием.

Обнаружено 16 типов конформационного полиморфизма в 9 регионах изученных генов. Идентифицированы два полиморфных варианта в гене рецептора 2 фактора роста (*TGFBR2*): *rs1155705* (с.3+7A>G) и с.452-4T>A, последний из них описан впервые, полиморфизм *rs334354* (с.1024+24G>A) в гене рецептора 1 фактора роста (*TGFBR1*) и два полиморфизма в гене фактора роста В (*TGFβ1*): с.713-8delC и *rs1800469* (с.-1347T>C). Генотип \*G\*G полиморфизма *rs1155705* гена *TGFBR2* ассоции-

рован с риском развития аневризм сосудов головного мозга ( $\chi^2 = 13,36$ ;  $p = 0,0003$ ; OR = 2,94 (95% ДИ 1,64—5,30)).

### Сложные хромосомные перестройки в этиологии бесплодия

**Сумина М.Г., Севостьянова И.А., Коноплева Н.В., Сергеева Н.Е.**

ГБУЗ СО «Клинико-диагностический центр «Охрана здоровья матери и ребёнка» г.Екатеринбург, ул.Флотская, 52 m.sumina@mail.ru

Известно, что носительство сбалансированных хромосомных транслокаций является одной из причин бесплодия. У мужчин такое носительство часто сочетается с нарушениями сперматогенеза различной степени тяжести. В нашей практике встретились два случая носительства сложных хромосомных перестроек у мужчин, которые проходили обследование в связи с первичным бесплодием в браке и нарушением сперматогенеза тяжёлой степени.

В первом случае у мужчины с азооспермией при GTG-окрашивании определён кариотип 46,X,der(Y),der(7),der(20). Для уточнения структуры перестроенных хромосом проведена флуоресцентная *in situ* гибридизация с использованием наборов зондов 24xCyte, xCyte7, xCyte20 (MetaSystems). Таким образом, установлена комплексная перестройка: 46,X,t(Y;7;20)(q11;p15;q11). Учитывая наличие азооспермии в сочетании с реципрокной транслокацией с вовлечением длинного плеча хромосомы Y, было проведено молекулярное исследование микроделений локуса AZF хромосомы Y. Микроделения не обнаружены.

Во втором случае первичное бесплодие сочеталось с олигоастенотератозооспермией у супруга. По результатам стандартного цитогенетического обследования обнаружены множественные хромосомные перестройки: 46,XY,der(5),der(9),der(18). При проведении молекулярно-цитогенетического исследования с набором зондов 24xCyte (MetaSystems) было установлено, что в перестройку дополнительно вовлечена хромосома 10. Использование наборов зондов xCyte5, xCyte9, xCyte10, xCyte18 (MetaSystems) позволило определить характер перестроек как транслокации (в том числе, интерстициальные) с вовлечением четырёх хромосом — 5, 9, 10 и 18.

Подобные случаи хромосомных перестроек с вовлечением трёх и более хромосом являются крайне редкими и сопряжены с очень высоким риском неблагоприятного исхода беременности даже при применении методов вспомогательных репродуктивных технологий в сочетании с преемплантационной генетической диагностикой в связи с большой долей гамет, несущих несбалансированный набор хромосом. Возможно, использование донорских гамет будет являться более рациональным методом ВРТ в данных случаях.

### Особенности медико-генетического консультирования в Якутии

**Сухомясова А.Л.<sup>1,2</sup>, Максимова Н.Р.<sup>2,3</sup>, Ноговицына А.Н.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> ГБУ РС(Я) «Республиканская больница №1 — Национальный центр медицины», Якутск, Сергеляхское ш., 4 AitalinaS@yandex.ru

<sup>2</sup> ФГУ Якутский научный центр КМП ФАНО, Якутск

<sup>3</sup> Северо-Восточный Федеральный университет им. М.К. Аммосова, Якутск

Региональная МГК входит в состав многопрофильного Национального центра медицины, что обеспечивает высокий уровень оказания медицинской помощи. В течение 15 лет ведётся автоматизированный регистр. Эффективным является выезд-



ное медико-генетическое консультирование в районах с накоплением моногенной патологии. Всего учтены 115 моногенных наследственных болезней (2029 больных), среди которых и этноспецифические (спиноцеребеллярная атаксия I типа, миотоническая дистрофия I типа, ЗМ-синдром, наследственная энзимопеническая метгемоглобинемия I типа, SOPH-синдром, атаксия Фридрейха, спинально-бульбарная амиотрофия Кеннеди, окулофарингеальная миодистрофия). Данная особенность учитывается при внедрении методов диагностики, составлении алгоритмов консультирования, организации профилактических мероприятий.

Значительная часть лабораторных исследований в МГК проводится в рамках массового обследования новорождённых на пять наследственных болезней обмена с охватом до 99,9% и пренатального скрининга беременных на сывороточные маркеры PAPP-A и свободный  $\beta$ -ХГЧ, цитогенетических исследований. ДНК-диагностика в МГК проводится на 23 моногенных заболевания с использованием методов ПЦР, секвенирования, биочиповой диагностики. Проводится пренатальная ДНК-диагностика.

Развитию медико-генетической службы Якутии способствует совместная работа с 2002 г. с отделом молекулярной генетики Якутского научного центра КМП ФАНО, с 2013 г. с Лабораторией геномной медицины СВФУ им. М.К. Аммосова. Расширены научные направления, разработки. Наиболее эффективные методы диагностики внедряются в практическое здравоохранение, например, использование разработанного биочипа на 5 частых аутосомно-рецессивных заболеваний в якутской популяции (ЗМ-синдром, SOPH-синдром, метгемоглобинемия I типа, тирозинемия I типа, глухота), геномного секвенирования.

### Спектр подходов к формированию выборок для биобанков (на примере дискуссии об анализе генофондов карачаевцев, балкарцев и ногайцев)

Схалыхо Р.А.<sup>1,2</sup>, Почешхова Э.А.<sup>3</sup>, Юсупов Ю.М.<sup>4</sup>, Узденов Т.Б.<sup>1</sup>, Балановская Е.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ Медико-генетический научный центр, 115478, Москва, ул. Москворечье, 1  
shalyaho.roza@yandex.ru

<sup>2</sup> Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, 119991, Москва, ул. Губкина д.3

<sup>3</sup> Кубанский государственный медицинский университет, 350000, Краснодар, ул. Седина, 4

<sup>4</sup> Институт гуманитарных исследований Республики Башкортостан, 450076, Уфа, ул. Гафури 13/1

Геногеографические исследования проводятся уже около ста лет, одни генетические системы сменяются другими, совершенствуются методы анализа, оборудование устаревает на глазах. Но в этом стремительном росте технологий неизменными остаются объект исследования и подходы к формированию выборок. Формирование популяционных выборок является первичным, ключевым этапом, причём по мере появления новых финансоемких технологий этот этап становится все более критическим. Ошибка на этом этапе грозит неверными результатами, и все совершенствование методов биоинформатики не может их устранить. При формировании геногеографической выборки используются два принципа:

1) отбор популяций с целью охвата наибольшего генетического разнообразия;

2) отбор представителей популяции с целью исключения из выборки метисов и родственников через анализ родословных с указанием мест рождения и этнической (субэтнической, клановой) принадлежности предков до 3 поколения.

Для оценки дифференциации генофонда используются социокультурные, клановые и географические подразделения. Здесь хорошим подспорьем может служить прикладная область геногеографии — генетическая генеалогия.

В докладе будут показаны активно дискутируемые различия в подходах к формированию трёх выборок из генофондов карачаевцев и балкарцев: популяционных выборок двух разных научных коллективов и выборок, сформированных по данным коммерческих генеалогических проектов; будут продемонстрированы различия в результатах анализа этих трёх выборок и обсуждены перспективы и границы применимости разных подходов. На примере изучения кубанских ногайцев будут продемонстрированы перспективные подходы верификации выявленных достоверных различий между разными популяционными выборками из одних и тех же этносов.

*Работа поддержана грантами РФФИ №13-06-00670, 14-06-31331.*

### Генетические и фенотипические предикторы антиагрегантного действия клопидогрела

Сычев Д.А.

*Кафедра клинической фармакологии и терапии РМАПО  
Москва, ул. Поликарпова 12/13  
dmitry.alex.sychev@gmail.com*

Клопидогрел является блокатором P2Y<sub>12</sub> рецепторов на тромбоците, препятствуя таким образом связыванию с ними АДФ и тем самым оказывая антиагрегантное действие. В настоящее время клопидогрел чаще в комбинации с ацетилсалициловой кислотой, реже в некоторых случаях, в виде монотерапии применяется для лечения и вторичной профилактики различных сердечно-сосудистых заболеваний, снижая риск различных тромботических осложнений (в т.ч. атеротромбоза). По некоторым показаниям (острый коронарный синдром), альтернативой клопидогрелу является ещё один представитель класса ингибиторов P2Y<sub>12</sub> рецепторов — тикагрелор, который однако хотя и продемонстрировал некоторые преимущества по эффективности по сравнению с клопидогрелом, но при его применении несколько чаще могут развиваться кровотечения, а также одышка. В тоже время при применении клопидогрела у пациентов возможен такой феномен как резистентность (лабораторная и/или клиническая, или даже парадоксальное проагрегантное действие), частота которой может достигать по данным некоторых авторов 30%. Причины этого феномена могут быть различными (межлекарственное взаимодействие, комплаенс пациентов и т.д.), но, очевидно, что они могут быть и генетическими. Клопидогрел (в отличие от тикагрелора) является пролекарством, т.е. изначально он не активен, но в печени через 2 реакции окисления из него образуется активный метаболит, который собственно и обладает антиагрегантным действием. Главными ферментами, являющимися катализаторами этих реакций являются изоферменты цитохрома P450 — 2C19 (CYP2C19) и 3A4 (CYP3A4). CYP2C19 является генетически полиморфным ферментом и накопилось большое число данных, свидетельствующих о наличии ассоциации между полиморфизмом гена *CYP2C19* (носительство аллельных вариантов CYP2C19\*2 и CYP2C19\*3) и лабораторной, а также клинической резистентностью к клопидогрелу. Наиболее часто в клинико-фармакологических исследованиях для оценки активности CYP3A4 используют экзогенные «маркерные» субстраты, в частности мидазолам. Имеются данные о связи антиагрегантного действия клопидогрела с активностью CYP3A4, оцененную с помощью эритромицинового теста. В настоящее время рассматривается возможность оценки активности CYP3A4 с помощью определения концентрации эндогенных метаболитов, образующихся с помощью CYP3A4. Данные методики валидизированы в клинических исследованиях, и перспективно их изучить для сопоставления с антиагрегантным действием клопидогрела и тикагрелора.

**Оценка цитогенетического статуса человека. Диагностика, коррекция, профилактика цитогенетических нарушений**

**Сычева Л.П.<sup>1</sup>, Журков В.С.<sup>1</sup>, Ревазова Ю.А.<sup>2</sup>, Бяхова М.М.<sup>1</sup>, Труханов А.И.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> ФГБУ «НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сытина» Минздрава России, Москва, Погодинская, 10/15, стр.1

<sup>2</sup> ФБУН Федерального научного Центра гигиены им. Ф.Ф. Эрсмана Роспотребнадзора, Московская обл., г.Мытищи, ул. Семашко, 2

<sup>3</sup> Клиника активного долголетия Институт Красоты на Арбате, Москва, Малый Николопесковский переулок д.8. [lpysheva@mail.ru](mailto:lpysheva@mail.ru)

Актуальной задачей развития «Медицины 4П» — профилактической, персонализированной, прогностической и партнерской — является разработка методов раннего выявления патологических состояний. В этом направлении все большее значение приобретает оценка цитогенетического статуса человека. Эта проблема с 1997 г. разрабатывается в рамках международного «Human Micronucleus Project» (HUMN), результатом которого стало доказательство значимого повышения частоты всех типов рака в группах со средней и высокой частотой лимфоцитов с хромосомными aberrациями или с микроядрами (Hagmar et al., Bonassi et al.). В 2007 г. открыт проект «The Human Micronucleus Assay in exfoliated cells» (HUMNxl), целью которого является отработка и унификация цитогенетического метода независимой оценки эксфолиативных клеток. Учитывая результаты этого Проекта нами разработан полиорганный кариологический тест (ПКТ), основанный на анализе клеток буккального, назального, уротелиального или бронхиального эпителия с оценкой полного спектра морфологических состояний клеточного ядра; предложена классификация кариологических показателей, включающая оценку цитогенетических показателей, пролиферации и деструкции ядра; разработан индекс накопления цитогенетических повреждений и выделены три уровня цитогенетического стресса (низкого, допустимого или высокого) (Сычева, 2014). Этот подход использован для оценки генетического здоровья в популяционных исследованиях при воздействии факторов окружающей среды: диоксинов; комплексного загрязнения среды целлюлозно-бумажным комбинатом; металлургическими предприятиями; предприятием по производству кофе; условиями среды в крупном офисном учреждении; нефтезагрязнениями почвы. Изучен цитогенетический статус больных бронхиальной астмой (Бяхова, 2008), муковисцидозом, врожденными пороками развития лёгких (Чистякова, 2009), туберкулёзом и злокачественными новообразованиями (Стацук, 2013; Бяхова, 2013). Показано значительное повышение уровня цитогенетического стресса при этих состояниях, наиболее выраженное при онкопатологии. Новые данные получены при использовании ПКТ для персонализированной оценки цитогенетического статуса человека. Высокий уровень цитогенетического стресса у индивида предполагает выявление и, по возможности, устранение причин (экзогенных или эндогенных факторов), а также коррекцию статуса путём приёма антиоксидантов. Получены положительные результаты такого подхода. Отмечено снижение уровня цитогенетических нарушений на фоне небольшой активации апоптоза у студентов после приёма витаминов А и С (Абазова и соавт., 2013); у сотрудников офиса после приёма витаминно-минеральных комплексов «Helvesana»; «Lenedex»; «Celergen».

**Молекулярно-генетическая классификация рака молочной железы на основе анализа метилотипов методом высокопроизводительного параллельного бисульфитного секвенирования**

**Танас А.С.<sup>1,3</sup>, Кузнецова Е.Б.<sup>1,3</sup>, Поддубская Е.В.<sup>2</sup>, Керимов Р.А.<sup>2</sup>, Залетаев Д.В.<sup>1,3</sup>, Стрельников В.В.<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», Москва, 115478, ул. Москворечье, д.1  
E-mail: [tanas80@gmail.com](mailto:tanas80@gmail.com)

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина», Москва, 115478, Каширское ш., д.24

<sup>3</sup> ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

Идентификация отдельных форм и подтипов злокачественных новообразований, предполагающих различные подходы к их лечению, — одна из актуальных проблем современной онкологии. Для рака молочной железы (РМЖ) уже предложена классификация подтипов, основанная на различиях экспрессии генов. Однако определение уровня экспрессии в клиническом образце осложняется наличием примеси нормальной ткани и низким качеством РНК, получаемой из архивных материалов. В качестве альтернативы рассматривается возможность использования для классификации подтипов РМЖ профилей метилирования ДНК геномов опухолей.

Цель работы — формирование классификации РМЖ на основе анализа метилотипов ДНК.

Материалы — 82 операционных образца РМЖ, 6 клеточных линий РМЖ (ZR-75-1, HBL-100, HS 578 T, BT-474, MCF7 и T-47D) и 10 образцов нормальных тканей молочной железы.

Методы: высокопроизводительное параллельное бисульфитное секвенирование ограниченных выборок геномных локусов (XmaI-RRBS, собственная разработка).

Определено пять молекулярных подтипов тканей и клеток молочной железы в зависимости от профилей метилирования CpG-динуклеотидов. Это подтипы, представленные клеточными линиями РМЖ, двумя независимыми группами образцов люминального РМЖ, образцами нормальной молочной железы и образцами триждынегативного и HER2+ РМЖ. Для нормального подтипа характерно общее гипометилирование, в то время как для подтипа клеточных линий РМЖ — общее гиперметилирование CpG-островков. Интересно отсутствие деления по метилотипам люминального РМЖ на подтипы А и В. При этом люминальные опухоли как таковые делятся по метилированию на два кластера, различающихся количеством метилированных CpG-динуклеотидов.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № А.*

**Сходство генетической компоненты в патогенетике различных типов сахарного диабета**

**Тарасенко Н.В., Кучер А.Н.**

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской генетики»

Российская Федерация, 634050, Томск, Набережная р. Ушайки, 10  
[nataly.tarasenko@medgenetics.ru](mailto:nataly.tarasenko@medgenetics.ru)

Исследование генетической «архитектуры» сахарного диабета позволило выявить генетические маркеры, ответственные за развитие конкретных форм патологии. Считается, что сахарный диабет 1 (СД1) и 2 (СД2) типов различается по основным звеньям патогенеза. Согласно информации, содержащейся в «Catalog of Published Genome-Wide Association Studies», в результате широкогеномных ассоциативных исследований (GWAS) выявлено 16 общих для двух этих типов диабета локусов: 2q24.2, 4q27, 5q31.1, 6p21.32, 6q22.32, 9p24.2, 10q23.31, 11p15.5, 12q13.2, 14q32.2, 15q14, 15q25.1, 17p13.1, 17q12, 19q13.32, Xq28. СД1 ассоциирован с 26 генетическими вариантами, локализованными в 21 гене (*IFIH1, KIAA1109, ADAD1, FSTL4, HLA-DRA, HLA-DQA1, TRNAI25, CENPW, GLIS3, IGF2, IGF2-AS, INS-IGF2, ERBB3, IKZF4, MEG3, RASGRP1, CTSH, DNAH2, GSDMB, PRKD2, GAB3*) и в 4 межгенных регионах (*VNIR55P — RNLS, MIR4686 — ASCL2, RPS26 — ERBB3, C14orf64 —*

*C14orf177*). К наиболее «нагруженным» по числу ассоциированных с СД1 вариантов относятся локусы 4q27 (rs4505848, rs17388568, rs6534347), 6p21.32 (rs9268645, rs9272346, rs2647044), 11p15.5 (rs7111341, rs1004446, rs3741208) и 12q13.2 (rs2292239, rs1701704, rs11171739). Для СД2 зарегистрированы 19 ассоциированных вариантов, локализованных в 10 генах (*RBMS1*, *PCBD2*, *GLIS3*, *KCNQ1*, *KCNQ1OT1*, *RASGRP1*, *SLC16A11*, *SLC16A13*, *HNFB*, *FAM58A*) и в 9 межгенных регионах (*ANXA5-TMEM155*, *ZFAND6-FAH*, *MTCO3P1-HLA-DQA2*, *YAP1P3-PRELID1P1*, *RPL11P3-MED6P1*, *LINC00523-DLKI1*, *C19orf83-GIPR*, *KRT18P48-DUSP9*, *DCD-VDAC1P5*). Два гена были общими и для СД1, и для СД2 — *GLIS3*, *RASGRP1*, причём ассоциации для расположенных в них вариантов выявлены и для европеоидов, и для монголоидов. Ген *GLIS3* участвует в регуляции уровня глюкозы, инсулина, что позволяет предположить участие данного транскрипционного фактора в развитии и функционировании  $\beta$ -клеток, продукции гормона инсулина. Продукт гена *RASGRP1* вовлечен в процессы дифференцировки тимоцитов, активирует RAS-сигнальный путь и Erk/MAP-киназный каскад, ассоциирован с повышенным уровнем гликированного гемоглобина, снижением функции  $\beta$ -клеток. Таким образом, два гена, общие для СД1 и СД2, кодируют белки, вовлечённые в регуляцию углеводного обмена, иммунного ответа и экспрессионную активность ряда генов. Это указывает на существование общих генетических механизмов формирования СД1 и СД2.

### Фрагментация ДНК в сперматозоидах мужчин с разным репродуктивным статусом

*Татару Д.А.<sup>1,2</sup>, Осадчук Л.В.<sup>2</sup>, Деревьев В.Ю.<sup>1</sup>, Секира А.Г.<sup>1</sup>, Перепечай Я.И.<sup>1</sup>, Маркова Е.В.<sup>1</sup>, Серебренникова О.А.<sup>1</sup>, Светлаков А.В.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> ООО «Красноярский центр репродуктивной медицины», 660037, г. Красноярск, ул. Коломенская, 26  
tataru\_dasha@inbox.ru

<sup>2</sup> ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, г. Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10

Уровень фрагментации ДНК в сперматозоидах является важным показателем при оценке мужской фертильности. Существуют данные, согласно которым, вероятность оплодотворения спермой мужчины, содержащей 30% сперматозоидов с повреждённой ДНК, крайне мала (Simon et al., 2011). Исследование фрагментации проводят, преимущественно, мужчинам с бесплодием с целью прогноза и увеличения результативности ВРТ. Данные, касающиеся уровня повреждений ДНК в сперматозоидах у фертильных мужчин, существует очень мало.

Цель — исследовать индекс фрагментации ДНК сперматозоидов (ИФД) у молодых мужчин из общей популяции, и у мужчин с нарушениями в спермограмме — пациентов Красноярского центра репродуктивной медицины (КЦРМ).

ИФД определяли у 480 мужчин цитофлуориметрическим методом с акридиновым оранжевым (Evenson, 1980) с модификациями (Шейна с соавт., 2012) и соблюдением рекомендованных условий хранения эякулята (Татару с соавт., 2013). Мужчины из г. Минска и г. Кемерово ( $N = 241$ ,  $22,6 \pm 3,6$  года; и  $N = 105$ ,  $21,5 \pm 2,3$  года) проживали в городах не менее 5 лет и не знали о своем репродуктивном статусе. Пациенты КЦРМ ( $N = 134$ ,  $32,5 \pm 5,2$ ) были обследованы на *AZF*-делеции, частые мутации гена *CFTR* и кариотип, в исследовании вошли только мужчины без выявленных генетических нарушений. Стандартный анализ эякулята проводился согласно требованиям ВОЗ (2012).

Самый низкий ИФД был установлен у мужчин из Минска (в среднем  $9,2 \pm 0,4\%$ ). В Кемерово число мужчин с высоким ИФД (более 27%) было в 5 раз выше, чем в Минске ( $p < 0,05$ ). У пациентов КЦРМ высокий ИФД встречался в 50% случаев, что достоверно чаще, чем у мужчин Кемерово и Минска ( $p < 0,001$ ).

Анализ фрагментации ДНК сперматозоидов может использоваться не только при планировании беременности, но и для оценки репродуктивного потенциала мужчин в популяциях.

### Анализ генов *P TEN*, *BLM*, *PALB2*, *RFWD3* у больных раком молочной железы и раком яичников из Республики Башкортостан

*Тахирова З.Р.<sup>1</sup>, Бермишева М.А.<sup>1</sup>, Прокофьева Д.С.<sup>2</sup>, Юркина О.<sup>2</sup>, Насырова Ю.<sup>2</sup>, Богданова Н.В.<sup>3,4</sup>, Доерк-Буссет Т.<sup>4</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup> ФБГУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН

г. Уфа, 450054, пр. Октября, 71

tahirovazalina@mai.ru

<sup>2</sup> ФГБОУ ВПО Башкирский Государственный Университет, Уфа, 450076, Заки Валиди, 32

<sup>3</sup> Clinics of Radiation Oncology, Hannover Medical School, Hannover, Germany

<sup>4</sup> Clinics of Obstetrics and Gynaecology, Gynaecology Research Unit, Hannover Medical School, Hannover, Germany

Рак молочной железы (РМЖ) и рак яичников (РЯ) — одни из наиболее распространённых онкологических заболеваний у женщин. В структуре онкологической заболеваемости России и Башкортостана РМЖ и РЯ занимают лидирующие позиции среди причин смертности от рака. Нами был проведён анализ кодирующего региона гена *P TEN* в группах больных РЯ ( $n = 250$ ) и РМЖ ( $n = 120$ ). Поиск нарушений в гене *P TEN* проводился с помощью метода анализа кривых плавления с высокой разрешающей способностью (HRM) с последующим секвенированием. В результате у больных РЯ были обнаружены замены: с.904A>C (0,4%) и с.217G>A (1,2%), ранее описанный полиморфный вариант с.132T>C (2%), а также замены в интронной области с.209+9G>C (0,4%), с.209+10T>C (0,4%). При исследовании гена *P TEN* у пациентов с РМЖ, имеющих семейную историю заболевания, была обнаружена замена в интронной области IVS4+21A>C (0,8%). Также проведён скрининг мутаций p.Q548X в гене *BLM* и с.509\_510delGA в гене *PALB2* у больных РМЖ ( $n = 1059$ ), РЯ ( $n = 250$ ) и в группе здоровых лиц ( $n = 1069$ ), используя метод HRM. Образцы с изменениями по кривой плавления были просеквенированы. Результатом скрининга стало обнаружение мутации p.Q548X у 5/1059 пациентов с РМЖ русской этнической принадлежности и наличие делеции с.509\_510delGA у 2/1059 пациентов с РМЖ русской этнической принадлежности, что свидетельствует о низкой частоте распространения данных мутаций в Республике Башкортостан. В ходе поиска генетических изменений в нуклеотидной последовательности недавно открытого гена *RFWD3* у 20 больных РМЖ с семейной историей заболевания, методом прямого секвенирования, нами был обнаружен ряд полиморфных вариантов: с.269C>A (19/20), с.1212G>A (16/20), с.1690A>G (10/20), с.1623T>A (13/20). Полученные данные в ходе анализа кодирующего региона гена *RFWD3* позволяют предположить, что его продукт, возможно, вовлечён в механизмы канцерогенеза.

Работа поддержана грантом РФФИ №14-04-97088-р\_поволжье\_а.

### Поиск ассоциации полиморфных маркёров генов семейства *IL1* с микробно-воспалительным процессом при пиелонефрите у детей

*Терентьева А.А.<sup>1</sup>, Кондратьева Е.И.<sup>1</sup>, Лошкова Е.В.<sup>1</sup>, Тарасенко Н.В.<sup>2</sup>, Степаненко Н.П.<sup>3</sup>, Солнышко А.Л.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России, г. Томск

<sup>2</sup> ФГБНУ «НИИМГ», г. Томск

<sup>3</sup> Филиал ТНИИКиФ ФГБУ СибФНКЦ ФМБА России

Цель исследования: изучить полиморфизмы генов семейства *IL1* (*IL1B* и *IL1RA*) и *TNFA* и оценить их патогенетическую



значимость для хронического пиелонефрита (ХП) в детском возрасте.

Пациенты и методы — выборка больных ХП 99 чел. (средний возраст  $8,01 \pm 3,26$  года. Контрольная группа включала 98 практически здоровых детей г.Томска.

Проведённый анализ ассоциаций трёх локусов в генах цитокинов с различными комплексными фенотипами хронического пиелонефрита продемонстрировал, что генотип A2A2 полиморфизма *IL1RN*\*VNTR ассоциирован с хроническим пиелонефритом, пузырно-мочеточниковым рефлюксом, вторичным пиелонефритом, нарушением функции почек, инфицированием *Escherichia coli* (OR = 13,71; 95% CI 2,37–102,8;  $\chi^2 = 19,34$ ;  $p = 0,001$ ) и *Klebsiella species* (OR = 24,17; 95% CI 3,38–215,8;  $\chi^2 = 24,30$ ;  $p = 0,001$ ). Генотип A2A2 гена *IL1RN*\*VNTR и аллель A2 гена *IL1RN*\*VNTR связаны с нарушением функции почек OR = 3,07 ( $p = 0,001$ ). Наиболее высокий риск развития ХПН установлен для генотипа A1A2 (OR = 22,94;  $p = 0,001$ ). Аллель G гена *TNFA*\*G-308A (rs1800629) ассоциирован с хроническим пиелонефритом (OR = 2,08,  $p = 0,041$ ).

Полученные ассоциации могут иметь значение при прогнозировании течения заболевания.

### Гетерозиготное носительство мутации сайта сплайсинга IVS1+1G>A гена *GJB2* (CX26) — фактор риска возрастных изменений слуха (пресбиакузис) в популяции якутов

Терютин Ф.М.<sup>1,2</sup>, Барашков Н.А.<sup>1,2</sup>, Кунельская Н.Л.<sup>3</sup>, Пшенникова В.Г.<sup>1,2</sup>, Соловьев А.В.<sup>2</sup>, Кларов Л.А.<sup>2,4</sup>, Кожевников А.А.<sup>4</sup>, Васильева Л.М.<sup>5</sup>, Федотова Э.Е.<sup>5</sup>, Романов Г.П.<sup>2</sup>, Готовцев Н.Н.<sup>2</sup>, Пак М.В.<sup>2,4</sup>, Леханова С.Н.<sup>2</sup>, Морозов И.В.<sup>7,9</sup>, Бондарь А.А.<sup>7</sup>, Соловьева Н.А.<sup>1</sup>, Рафаилов А.М.<sup>2</sup>, Алексеев А.Н.<sup>6</sup>, Посух О.Л.<sup>8,9</sup>, Джемилева Л.У.<sup>10</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>10,11</sup>, Федорова С.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем» (Якутск), Россия  
e-mail: rest26@mail.ru

<sup>2</sup> ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова» (Якутск), Россия

<sup>3</sup> ГБУ здравоохранения г. Москвы «Московский научно-практический центр оториноларингологии им. Л.И. Свержевского» департамента здравоохранения города Москва (Москва), Россия

<sup>4</sup> ГБУ РС(Я) «Республиканская больница №2 — Центр экстренной медицинской помощи» (Якутск), Россия

<sup>5</sup> ГБУ РС(Я) «Республиканская больница №1 — Национальный центр медицины» (Якутск), Россия

<sup>6</sup> ФГБУН Институт гуманитарных исследований и проблем малочисленных народов Севера СО РАН (Якутск), Россия

<sup>7</sup> ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, (Новосибирск), Россия

<sup>8</sup> ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия

<sup>9</sup> ФГБОУ ВПО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» (Новосибирск), Россия

<sup>10</sup> ФГБУН Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН (Уфа), Россия

<sup>11</sup> ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет» (Уфа), Россия

Возрастная потеря слуха (пресбиакузис) — наиболее частое сенсорное нарушение, регистрируемое у 50% лиц в возрасте 80 лет. Этиология пресбиакузических расстройств имеет многофакторную природу и связана как с экзогенными воздействиями, так и с генетическими причинами. В настоящей работе впервые представлены результаты генотип-фенотипического сопоставления порогов слуха гетерозиготных носителей мутации сайта

сплайсинга IVS1+1G>A гена *GJB2* ( $n = 48$ ) и индивидов с нормальным *GJB2*-генотипом (wt/wt,  $n = 97$ ) в эндемичном очаге накопления мутации IVS1+1G>A на территории Восточной Сибири (популяция якутов). Генотип-фенотипические корреляции были построены на основе молекулярно-генетических результатов ресеквенирования промоторной и кодирующей области гена *GJB2* и аудиологического анализа в диапазоне частот: 0,25, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0, 8,0 кГц. Выявлены достоверные отличия средних порогов слуха на высоких частотах (8,0 кГц) между группами индивидов с генотипом IVS1+1G>A/wt (для обоих полов) и генотипом wt/wt ( $p < 0,05$ ) в возрастных когортах 20–39 и 40–59 лет, с тенденцией к повышению с возрастом. В клинически значимом речевом диапазоне частот (РДЧ<sub>0,5,1,0,2,0,4,0</sub> кГц) у индивидов с генотипом IVS1+1G>A/wt выявлено линейное повышение средних порогов слуха в зависимости от возраста (коэффициент корреляции Пирсона: для мужского пола  $r = 0,571$ ,  $p = 0,001$ , для женского пола  $r = 0,506$ ,  $p = 0,000011$ ). Условная возрастная граница манифестации нарушений слуха у лиц с генотипом IVS1+1G>A/wt составила –40 лет ( $r = 0,573$ ,  $p = 0,0001$ ). Результаты исследования свидетельствуют о том, что гетерозиготное носительство мутации IVS1+1G>A гена *GJB2* ассоциировано с возрастными нарушениями слуха в популяции якутов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Грантов РФФИ (14-04-01741\_а), проекта Министерства образования и науки РФ ГК №6.656.2014/К и Интеграционного проекта СО РАН №92.

### Аллельные комбинации генов хемокинов как потенциальные предикторы эссенциальной гипертензии

Тимашева Я.Р., Насибуллин Т.Р., Мустафина О.Е.

Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, 450054, г.Уфа, просп. Октября, 71  
ianina\_r@mail.ru

Эссенциальная гипертензия, или гипертоническая болезнь — это хроническое заболевание, характеризующееся стойким подъемом артериального давления. Эссенциальная гипертензия представляет собой классический пример многофакторного заболевания, в возникновении которого принимают участие как генетические, так и средовые факторы. Вклад генетической предрасположенности в развитие эссенциальной гипертензии составляет, по данным различных исследований, от 30% до 60%. В настоящее время общепринятой является теория о воспалительной природе этиопатогенеза сердечно-сосудистых заболеваний. Хемокины — это группа пептидов, участвующих в регуляции хемотаксиса лейкоцитов и их адгезии к стенкам сосудов в очаге воспаления, а также выполняющих ряд других функций в процессе воспаления.

Цель исследования состояла в проведении анализа ассоциаций с эссенциальной гипертензией полиморфных маркёров генов хемокинов и хемокиновых рецепторов *CCL2* (rs1024611, -2518A>G), *CCR2* (rs1799864, 190A>G, Val64Ile), *CCL8* (rs3138035, -571C>T), *CCL18* (rs2015086, -86C>T), *CXCL1* (rs4073), *XCRI* (rs8073066), *CCR5* (rs333, Δ321/D), *CXCR2* (rs1126579, +1235T>C), *CX3CR1* (rs3732378, 848A>G, Met280Thr).

Генотипирование по исследуемым полиморфным локусам было проведено с использованием методов ПЦР-ПДРФ и ПЦР с аллель-специфичными праймерами в группе, состоящей из 216 больных ЭГ и 314 лиц без признаков сердечно-сосудистых заболеваний. Все участники исследования были татарами по этнической принадлежности, постоянно проживающими на территории Республики Башкортостан. Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью пакета прикладных программ IBM SPSS. Аллельные комбинации, ассоциированные с эссенциальной гипертензией, были выявлены при помощи метода Монте-Карло цепями Маркова (программа APSampler).

Обнаружено, что повышенный риск заболевания отмечался у носителей сочетания аллелей  $CCL8^{*T} + CCR2^{*I} + CX3CR1^{*M} + CCR5^{*I} + CXCR2^{*T}$  (OR = 6,342, FDR = 0,04);  $CCR2^{*I} + CX3CR1^{*M} + CXCL1^{*G} + CXCR2^{*T}$  (OR = 4,48, FDR = 0,04);  $CCR2^{*V} + CXCL8^{*A} + CCR5^{*I} + XCR1^{*T}/T$  (OR = 3,11, FDR = 0,04). При этом результаты анализа ассоциаций индивидуальных локусов с эссенциальной гипертензией продемонстрировали наличие повышенного риска развития заболевания у носителей генотипа  $CXCL1^{*G}/G$  и аллеля  $CXCL1^{*G}$  (OR = 1,49,  $p = 0,0379$  и OR = 1,23,  $p < 0,001$  соответственно), а также генотипа  $XCR1^{*T}/T$  и аллеля  $XCR1^{*T}$  (OR = 2,08,  $p = 0,0008$  и OR = 1,48,  $p < 0,001$  соответственно). Пониженный риск развития заболевания был ассоциирован с аллелем  $XCR1^{*C}$  (OR = 0,68,  $p < 0,001$ ).

Исследование поддержано грантом РФФИ №13-04-01561-а.

## Синдром Шпринцен—Гольдберг

Тимолянова Е.К., Байбикова Г.Ш., Шокарев Р.А., Карельян В.И.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии» Министерства здравоохранения Российской Федерации; г.Ростов-на-Дону, ул. Мечникова, 43  
ГБУ РО «Госпиталь ветеранов войны», г.Ростов-на-Дону, ул. 26-линия, 27  
E-mail: karelyan.vera@mail.ru

Синдром Шпринцен—Гольдберг, как установлено, является результатом мутаций гена SKI, расположенного на хромосоме 1p36.33, в большинстве случаев, возникающих спорадически, но наследуемых аутосомно-доминантно. Главные клинические особенности синдрома — марфаноподобная внешность, долихоцефалия, экзофтальм, мышечная гипотония и умственная отсталость.

Под нашим наблюдением находилось 3 семьи, пробанды которых имели данную патологию. У всех поражённых членов семей были представлены основные признаки заболевания. В семье Е. прослежено наследование синдрома в 3-х поколениях. У пробанда дополнительно диагностированы: врождённый порок сердца, умеренная наружная гидроцефалия, умственная отсталость средней степени. Пограничная интеллектуальная недостаточность зарегистрирована у брата, отца и, возможно, деда пробанда. В семье Э. синдром был представлен спорадически у ребёнка родителей 41 и 43 лет, имевших 4-х здоровых старших детей. В семье Д. заболевание выявлено у двоих разнополых сибсов, родившихся у здоровых родителей, первая беременность которых была прервана из-за кариотипа 45,X у плода. Оба больных страдают умственной отсталостью лёгкой степени.

Изменений кариотипа у детей и их родителей не обнаружено. Содержание гомоцистеина крови в пределах референтных значений. НЭМГ зафиксировала супрасегментарные поражения.

Таким образом, если в первой семье отмечено характерное аутосомно-доминантное наследование и во второй семье можно заподозрить мутацию *de novo*, особенность третьей семьи (рождение двух больных разнополых сибсов у здоровых родителей) позволяет предполагать гетерогенность заболевания или гонадный мозаицизм.

УДК: 575.174.015.3

## Полиморфизм генов ферментов антиоксидантной системы у жителей Кузбасса, больных раком лёгкого

Титов Р.А., Минина В.И., Рыжкова А.В.

ФГБУН «Институт экологии человека» СО РАН, Кемерово, ул. Ленинградский, 10  
Ruslan-Tito00@Rambler.ru

Активные формы кислорода вызывают окислительное повреждение ДНК, приводя к мутациям и изменению функции генов, а также могут индуцировать экспрессию множества транскрипционных факторов, участвующих в неопластической трансформации клеток. Антиоксидантная система является важным компонентом противоопухолевой защиты. Рядом исследований показано, что некоторые полиморфизмы генов антиоксидантной системы служат фактором риска развития рака лёгкого (РЛ) [1]. Поэтому целью данного исследования явилось изучить полиморфизм генов *MnSod* (rs4880), *hGPX1* (rs1050450) и *CAT* (rs1001179). В исследование включено 397 больных РЛ, поступивших (первично) на лечение в Кемеровской областной клинической онкологической диспансер. В качестве популяционного контроля использовали выборку 340 здоровых лиц, проживающих в г. Кемерово. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA for Windows 6.0».

Установлено, что в изученных выборках распределения частот аллелей и генотипов изученных полиморфных маркёров не имели отклонений от равновесия Харди—Вайнберга. Было установлено, что генотип Pro198Pro гена *hGPX1* в 1,2 раза чаще встречается у здоровых (48,4% у здоровых и против 40,1% больных РЛ;  $p = 0,0427$ ) (таблица). В нашем исследовании не было обнаружено ассоциаций между полиморфными локусами *CAT* -262 C>T и *MnSod* Ala16Val и увеличением риска развития РЛ. При сравнении полиморфных локусов у курящих и некурящих людей также не было выявлено ассоциаций с увеличением риска развития РЛ.

### Распределение генотипов генов *hGPX1*, *CAT* и *MnSod* в группах обследованных жителей Кемеровской области

Ген	Генотип	Больные РЛ	Здоровые	$\chi^2$	P
<i>hGPX1</i>	CC	122 (40,1%)	165 (48,4%)	3,45	<b>0,0427</b>
	CT	150 (49,3%)	145 (42,5%)	1,99	0,0977
	TT	32 (10,6%)	31 (9%)	0,39	0,6311
<i>CAT</i>	CC	143 (58,41%)	111 (60,3%)	0,29	0,7571
	CT	81 (33,1%)	60 (32,6%)	0,01	0,9959
	TT	21 (8,5%)	13 (7,1%)	0,36	0,6959
<i>MnSod</i>	CC	145 (36,5%)	114 (32,7%)	0,76	0,3175
	CT	181 (45,6%)	160 (46%)	0,02	0,9748
	TT	71 (19,9%)	74 (21,3%)	0,60	0,2847

Исследование проведено при финансовой поддержке программы «УМНИК» по Кемеровской области.

## Эпигенетические модификации генома в нарушении развития

Толмачева Е.Н., Васильев С.А., Кашеварова А.А., Скрябин Н.А., Марков А., Лебедев И.Н.

ФГБНУ «НИИ медицинской генетики» г.Томск, 634050, ул. Набережная р. Ушайки, д. 10  
kate.tolmacheva@medgenetics.ru

Для раннего эмбриогенеза человека характерен чрезвычайно высокий уровень летальности. Около половины спонтанных абортусов имеют аномалии хромосомного набора, большая часть которых находится в мозаичном состоянии. Причина гибели эмбрионов с нормальным кариотипом имеет мультифакторную основу, то есть является результатом аддитивного действия многих генов, как зародыша, так и матери, а также комплекса неблагоприятных факторов внешней среды. Анализ профиля метилирования CpG-динуклеотидов, локализованных в промоторных регионах более чем 10 тысяч генов внезародышевых тканей эмбрионов с мозаичной формой трисомии хромосомы 16 выявил, что, в целом, уровень метилирования этих сайтов был значимо выше в образцах с мозаичными формами

трисомии, чем у индуцированных абортусов (ИА) с нормальным кариотипом. Было выделено 39 гиперметилированных сайта в 36 генах, которые относятся к различным функциональным группам, в том числе клеточному циклу, дифференцировке, пролиферации, и гибели. Повышение уровня метилирования было зафиксировано и для ретротранспозона LINE-1, занимающего 17% всего генома (56,5% у мозаиков и 51,8% у ИА,  $p = 0,05$ ). Внезародышевые ткани спонтанных абортусов (СА) с нормальным кариотипом, напротив, характеризуются гипометилированием в CpG-сайтах и генов, и LINE-1 по сравнению с ИА (40,9% и 43,4%,  $p < 0,001$ ). В этой группе были выявлены как гипо-, так и гиперметилированные гены (55 и 192 соответственно). Среди гиперметилированных генов были значимо обогащены группы генов, участвующих в процессах позитивной регуляции клеточного цикла, метаболизме рРНК, регуляции убиквитинирования белков, а также гены белков, обладающих метилтрансферазной активностью. Таким образом, для раннего эмбриогенеза человека характерен высокий уровень не только генетических, но и эпигенетических нарушений, затрагивающий различные области генома. Гиперметилирование множественных участков генома, в том числе генов контроля клеточного цикла, может привести к потере лишней хромосомы и формированию хромосомного мозаицизма. С другой стороны, СА с нормальным кариотипом также имеют аномалии метилирования, связанные, по всей видимости, с их внутробной гибелью.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №14-04-01003*

### Использование комплекса цитогенетических методов для оценки мутагенных и анеугенных эффектов при длительном воздействии ионизирующей радиации

*Толочко Т.А., Ингель Ф.И., Мейер А.В.,  
Ульянова М.В., Мелин Д.А.*

*ФГБОУ ВПО Кемеровский государственный университет,  
г. Кемерово, ул. Красная, 6  
totat@list.ru*

Разработка методов и критериев оценки влияния ионизирующей радиации, основным источником которой является радон и продукты его распада, остается одной из актуальных задач антропоэкологии. Сотрудниками кафедры генетики Кемеровского госуниверситета в ходе радиологического мониторинга различных районов Кемеровской области в школе-интернате г. Таштагол установлено многократное превышение показателя объёмной активности радона в учебных и жилых помещениях, показатель ЭРОА радона в весенний и зимний периоды составил 314 Бк/м<sup>3</sup> и 547 Бк/м<sup>3</sup> соответственно. С целью идентификации гено- и цитотоксических эффектов воздействия ионизирующей радиации проведено обследование групп детей и подростков, постоянно проживающих в условиях экспозиции радоном (231 чел., средний возраст 13,01 ± 0,24 года) и контрольной группы (186 чел., средний возраст 14,01 ± 0,27 года), сформированной в населённых пунктах с благополучной радиологической обстановкой. Генотоксические эффекты в лимфоцитах крови изучали с помощью метода учёта хромосомных aberrаций [Hungerford, 1965]. Учёт микроядер и ядерных протрузий в культуре лимфоцитов, культивируемых в условиях цитокинетического блока, осуществляли с помощью стандартной методики [Fenech, 2000]. Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью программы StatSoft Statistica 6.0.

Анализ полученных результатов позволил установить, что среднее значение суммарной частоты хромосомных aberrаций в экспонированной радоном группе статистически достоверно ( $P < 0,001$ ) превышает значение данного показателя контрольной группы, соответствующие значения составили 4,18 ± 0,14%

и 2,80 ± 0,16%. Для группы экспонированной радоном показано статистически значимое ( $P < 0,01$ ) увеличение частоты выявления хромосомных и хроматидных фрагментов, дицентрических и кольцевых хромосом, хромосомных транслокаций и «rogue cell» относительно контроля. Данные микроядерного теста позволили установить, что при длительном воздействии сверхнормативных доз радона у детей и подростков увеличивается частота образования ядерных протрузий в двух-, трёх- и четырёхядерных клетках, а также микроядер и межядерных мостов в многоядерных клетках,

*Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ проект №13-06-98014р-Сибирь-а, Соглашения №19 с АКО и государственного заказа Минобрнауки РФ №2014/64.*

### Молекулярный анализ мутаций экзона 9 гена CALR у российских пациентов с JAK2V617F и MPLW515L/K-негативной эссенциальной тромбоцитемией и первичным миелофиброзом

*Треглазова С.А., Абдуллаев А.О., Якутик И.А.,  
Степанова Е.А., Никулина Е.Е., Суборцева И.Н.,  
Меликян А.Л., Ковригина А.М., Судариков А.Б.*

*ФГБУ Гематологический научный центр МЗ РФ,  
125167, Москва  
svetik997@yandex.ru*

J. Nangalia и T. Klampfl с соавт. описаны мутации экзона 9 гена CALR у пациентов Jak2V617F и MPLW515L/K-негативными хроническими миелопролиферативными заболеваниями (ХМПЗ). Мутации приводят к сдвигу рамки считывания и синтезу структурно изменённого белка CALR, активирующего транскрипционные факторы сигнального пути JAK-STAT, что приводит к неконтролируемой пролиферации миелоидного ростка костного мозга. В случаях, когда отсутствуют маркеры Jak2V617F и/или MPLW515L/K, обнаружение мутаций экзона 9 гена CALR может дополнить критерии диагностики ЭТ и ПМФ, предложенной ВОЗ в 2008 г.

Цель работы — молекулярный анализ мутаций экзона 9 гена CALR у пациентов с ЭТ и ПМФ на выборке российских пациентов.

Исследовано 96 образцов ДНК клеток крови пациентов (54 с ЭТ и 37 ПМФ) и 22 здоровых доноров (контрольная группа). Клинический диагноз ЭТ и ПМФ соответствовал критериям ВОЗ 2008 г. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) проведена с использованием набора реактивов для ПЦР (Синтол, Россия) и праймеров следующей последовательности CALR\_A5'TGAGGTGTGTGCTCTGCCT3', CALR\_AR5'GGTGAGGGCTAAGGAGAATC3' и CALR\_BF5'GGTTCGGATTTGGGGTGGAT3', CALR\_BR 5'AGGAGACACAGGAGGGAGAC3'. ПЦР продукты (458 и 482 п.н.) анализировали методом прямого секвенирования по Сэнгеру.

Мутации экзона 9 гена CALR выявлены у 44% (24/54) пациентов и у 43% (16/37) пациентов с Jak2V617F и MPLW515L/K-негативных ЭТ и ПМФ соответственно. Мутации экзона 9 гена CALR у пациентов с ЭТ представлены у 15 пациентов делецией (у 10 делеция 52 п.н. с.1092\_1143del. p.L367fs\*46 и по одному делецией 8, 20, 37, 45 п.н.) и у 9 TTGTC инсерцией с.1154\_1155\_insTTGTC, p.Lys385fs. У пациентов с ПМФ выявлены 11 делеций (52 п.н. с.1092\_1143del. p.L367fs\*46) и 4 инсерции TTGTC (с.1154\_1155\_insTTGTC, p.Lys385fs), а также одна инсерция TGTC (с.1154\_1155\_insTGTC, p.Lys385fs). В контрольной группе мутации не выявлены.

Выявленные у российских больных ХМПЗ частота и типы мутаций экзона 9 гена CALR соответствуют опубликованным для других выборок.



## Изучение митохондриальной ДНК и Y-хромосомы в популяциях Волго-Уральского региона

Трофимова Н.В.<sup>1</sup>, Литвинов С.С.<sup>2,3</sup>, Юнусбаев Б.Б.<sup>2,3</sup>, Рохтис С.<sup>3</sup>, Метспалу Э.<sup>3</sup>, Метспалу М.<sup>3</sup>, Виллемс Р.<sup>3</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Башкирский государственный университет, Уфа 450074

<sup>2</sup> Учреждение Уфимского научного центра Российской академии наук Институт биохимии и генетики, Уфа 450054  
e-mail: elzakh@rambler.ru

<sup>3</sup> Эстонский биоцентр и Тартуский университет, Тарту, Эстония, 51010

В популяциях Волго-Уральского региона было выявлено 73 гаплогруппы мтДНК. Из них подавляющее большинство (82,7%) представлено западноевразийскими гаплогруппами (HV, H, V, J, T, U, R1, N1a, N1b, N1c, W, X). Восточноевразийский компонент представлен 12 гаплогруппами (A, B, C, D, F, G, Y, Z, M3a, R9, N11 и N9a). Наибольший вклад в митохондриальный генофонд региона вносят линии гаплогрупп H (24,98%), U (20,7%) и T (11,5%), в сумме они составляют около половины всех гаплогрупп мтДНК в Волго-Уральском регионе. В популяциях Волго-Уральского региона полностью просеквенировано 33 митохондриальных генома, принадлежащих парам группе H\* (образцы, не относящиеся к линиям H1-H14). В трёх популяциях была выявлена гаплогруппа H55: у марийцев (8,6%), архангельских башкир (6,8%) и чувашей (2,9%). В популяции удмуртов обнаружена новая гаплогруппа H99 с частотой 4,6%.

Основная доля генофонда Y-хромосомы изученных популяций приходится на три гаплогруппы: R-M269, R-M198 и N-M231, частоты которых в сумме в разных популяциях составляют от 49% до 100%. Опираясь на работы по изучению новых маркёров (Pamjav et al., 2012; Underhill et al., 2014), нами было проведено изучение отдельных ветвей гаплогруппы R1a-M198. Показано, что из европейских субгаплогрупп (R1a-M458 и R1a-M558) в популяциях Волго-Уральского региона чаще встречается R1a-M558, которая была обнаружена нами практически во всех популяциях Волго-Уральского региона, за исключением башкир. Преимущественно азиатская гаплогруппа R1a-Z93 в Волго-Уральском регионе представлена тремя линиями: R1a-Z93(xZ95), R1a-Z95(xZ2125), R1a-Z2125. Показано, что R1a-Z93(xZ95) и R1a-Z95(xZ2125) в популяциях региона присутствуют с низкими частотами, в то время как R1a-Z2125 является доминирующей в субпопуляциях башкир из Самарской и Саратовской областей (39,2%), западного Оренбуржья (33,3%), Стерлибашевского района Республики Башкортостан (РБ) (34%), Бурзянского района РБ (31%), Абзеловского района РБ (14,6%).

## Генетические факторы риска рассеянного склероза

Туктарова И.А.<sup>1</sup>, Насибуллин Т.Р.<sup>1</sup>, Запыхова О.В.<sup>2</sup>, Бахтиярова К.З.<sup>2</sup>, Мустафина О.Е.<sup>1</sup>

Уфа, Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН  
Уфа, Башкирский государственный медицинский университет

Рассеянный склероз — хроническое аутоиммунное неврологическое заболевание, характеризующееся воспалением, демиелинизацией и последующими аксональными повреждениями в центральной нервной системе (ЦНС).

Для выявления генетических вариантов лежащих в основе подверженности рассеянному склерозу использовали следующие подходы: исследование генов-кандидатов; репликативное исследование полиморфных вариантов генов ассоциированных с рассеянным склерозом по данным полногеномных исследований в этнических группах (русских, татар, башкир) Республики Башкортостан; анализ межгенных взаимодействий. Всего исследовано 642 больных РС, 285 русских (44%), 260 та-

тар (41%) и 97 башкир (15%) по национальности, из них 420 женщин (65,4%) и 222 мужчины (34,6%).

Проведено исследование полиморфных локусов rs5498 гена *ICAM1*, rs3212780 гена *JAK3* rs10624573, rs1494558 гена *IL7R*, rs1570538, rs12722580 гена *IL2RA*, rs2069772 гена *IL2*, rs4646903 гена *CYP11A1*, rs762551 гена *CYP11A2*, rs3135388, rs3129934 гена *HLA-DRB1*, rs4648110, rs28362491 -941/D(4) гена *NF-κB1*, rs9523762 гена *GPC5*.

Установлено, что у русских с рассеянным склерозом у ассоциирован rs3135388 \*C/T (OR = 1,71), у этнических башкир *CYP11A1* \*T/C (OR = 2,18), *CYP11A2* \*A/A (OR = 2,04), у этнических татар (женщин) *CYP11A2* \*A/A (OR = 1,91), протективных для русских РБ является генотип rs3135388 \*C/C (OR = 0,57), гена *HLA-DRB1*, у башкир *CYP11A1* \*T/T (OR = 0,49), у этнических татар (женщин) *CYP11A1* \*C/C гена *CYP11A2* и *CYP11A1* \*C/C (OR = 0,27). Повышен риск РС в общей группе больных у этнически русских с генотипом rs3129934 \*T/T (OR = 2,37) татар с генотипом rs3129934 \*T/T (OR = 3,57), rs3129934 \*T/C (OR = 1,61) гена *HLA-DRB1*.

Анализ с учётом гендерных различий выявил, что шансы развития РС повышены для русских женщин с генотипом rs3129934 \*T/T (OR = 4,26 CI 1,35 — 13,4) и rs3129934 \*T/C (OR = 2,16 CI 1,39—3,36), для женщин татар с rs3129934 \*T/T (OR = 8,3 CI 1,04—66,5) и rs3129934 \*T/C (OR = 2,16 CI 1,39—3,36). Выявлено, что генотип rs3129934 \*C/C является протективным у русских в общей выборке (OR = 0,43 CI 0,31—0,6), в группе у русских женщин (OR = 0,37 CI 0,24—0,57), в общей группе у татар (OR = 0,53 CI 0,38—0,74). Для полиморфного маркёра rs9523762 гена *GPC5* в популяции татар в общей группе риск РС понижен для генотипа *GPC5* \*G/G (OR = 0,67 CI 0,47—0,95) и в группе женщин татар для генотипа *GPC5* \*G/G (OR = 0,47 CI 0,28—0,8) и аллеля *GPC5* \*G (OR = 0,61 CI 0,43—0,87), повышен риск РС для носителей аллеля *GPC5* \*A (OR = 1,65 CI 1,15—2,36). Для полиморфного маркёра *NFKB1* (rs28362491, -941/D(4)) в популяции татар риск развития РС понижен в группе женщин и мужчин для генотипа *NFKB1* \*I/D, отношение шансов соответственно (OR = 0,46 CI 0,24—0,88, OR = 0,52 CI 0,29—0,93).

Анализ межгенных взаимодействий для *IL2* (4q25-q27, 4463A>G, rs 2069772); *IL2RA* (10p15.1, 39504(73) I/D, rs 12722580); *IL7R* (5p13.2, 598(5) I/D rs 10624573, *HLA-DRB1* \*1501 (rs3385388, 16p15.1), выявил комбинацию из ДНК-локусов трёх генов предрасполагающей к РС для русских: *IL2R* \*D+*IL7R* \*I+*HLA-DRB1* \*T/C (p = 0,042 OR = 2,37), *IL2R* \*D+*IL2* \*A+*HLA-DRB1* \*T/T (p = 0,045 OR = 1,97), понижен риск РС для *IL7R* \*D+*IL2* \*G+*HLA-DRB1* \*C/C (OR = 0,62, p = 0,062).

## Компьютерные программы как пример партисипаторного партнёрства

Тулузановская И.Г., Балашова М.С., Литвинова М.М., Балкаров И.М., Жученко Н.А., Асанов А.Ю.

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России 119991, Москва, ул. Трубецкая, д.8, стр.3  
e-mail inna\_177@mail.ru

В промышленно развитых странах, включая Российскую Федерацию, содержание оказания медицинской помощи населению постепенно меняет основной вектор, в фокусе был больной индивид, на парадигму «4П медицина»: Предикция — предсказание болезни до клинических проявлений; Превенция — предупреждение развития заболевания; Персонализация (учёт индивидуальных (генетических) особенностей человека) и Партисипаторность — непосредственное участие человека в процессе заботы о своём здоровье.

Большинство людей игнорируют первые симптомы заболевания, не требующие немедленной медицинской помощи. Одним из возможных вариантов привлечения человека к участию

в »процессе заботы о своём здоровье», могут стать компьютерные программы, такие как программа составления родословной на основе специализированной анкеты.

На первом этапе заполняется анкета-опросник по состоянию здоровья членов семьи (при этом клинические признаки, заболевания изложены в доступной форме). Опросник заполняется самостоятельно, с помощью подробной и наглядной инструкции. Далее программа определяет наиболее часто встречающиеся состояния (заболевания) и позволяет ответить на один из важных вопросов, есть ли накопление определённых клинических признаков или заболеваний в этой семье.

Следующий этап, это работа пользователя с врачом: врач определяет, существует ли в семье наследственная предрасположенность к заболеванию и намечает план дальнейшего, уточняющего обследования. Заключительный этап — совместное обсуждение плана профилактических мероприятий, направленных на предупреждение развития заболевания или улучшение качества жизни.

В этой связи компьютерные программы призваны увеличить комплаентность между врачом и пациентом, делая его и его семью партнёром в данном исследовании, так как позволяя ему участвовать в процессе диагностики и профилактики заболеваний. Предлагаемый подход может быть эффективным в «Школах здоровья», среди обучающихся в медицинских вузах и в контингенте больных.

### Тест-система на основе биочипа для диагностики частых наследственных болезней у населения Республики Саха (Якутия)

*Турдиева М.Т., Максимова Н.Р.*

*Северо-восточный федеральный Университет им. М.К. Аммосова, УНЛ «Геномная медицина» Клиники МИ, ООО «Генодиагностика», Якутск*

В медико-генетической консультации в Республике Саха (Якутия) на учёте стоят около 3500 чел. с наследственной врождённой патологией и к настоящему времени зафиксировано 130 наследственных заболеваний. И каждое заболевание требует уточнения причины и поиска новых мутаций. Якутская популяция является гомогенной популяцией, в которой наблюдается накопление отдельных форм этно-специфической патологии или отдельных мутаций, с частотами, в разы превышающими частоты в других мировых популяциях. Проведённые исследования указывают на наличие частых мутаций в генах наследственных заболеваний, характерные только для якутской популяции. Наследственные заболевания не лечатся, поэтому основным способом снижения частоты этих заболеваний остается их профилактика. С целью решения данной проблемы, в МИП «Генодиагностика» при учебно-научной лаборатории «Геномная медицина» был разработан ДНК-биочип для диагностики наиболее часто встречаемых наследственных болезней и скрининг гетерозиготного носительства.

Разработанный ДНК-биочип представляет собой стеклянный слайд, с нанесёнными на нем олигонуклеотидными маркерами, выявляющие наличие мутаций, характерные для пяти частых наследственных болезней: 3М синдром (4582insT в гене *CUL7*) SOPH синдром (5741 G→A в гене *NAG*) наследственная энзимопеническая метгемоглобинемия (*DIA1*), тирозинемия IA типа (1090 G>C в гене *FAH*) и сенсоневральная врождённая глухота IA типа (1VS1+1G>A в гене *GJB2*).

Данные заболевания имеют очень высокую частоту встречаемости у населения Республики Саха (Якутия). К примеру, частота гетерозиготного носительства мутации, характерный для 3М синдрома, в якутской популяции составляет 3%, что говорит о том, что около 13 тыс. якутов (каждый 33-й якут) являются гетерозиготными носителями мутации. Разработанная тест-система позволит проводить массовый молекулярный скрининг на

данные заболевания и скрининг гетерозиготного носительства, что в будущем способствует снижению частоты и числа случаев этих заболеваний). В настоящее время планируется проведение апробации экспериментальной партии биочипов, оптимизационный процесс по внедрению биочипового анализа на частые наследственные заболевания в условиях лаборатории «Геномная медицина» Клиники мединститута СВФУ.

### Опыт использования высокопроизводительного параллельного секвенирования в диагностике моногенных эндокринных заболеваний

*Тюльпачев А.Н., Колодкина А.А., Гюева О.А., Макреция Н.А., Наумова М.В., Соркина Е.Л., Тихонович Ю.В., Зубкова Н.А., Меликян М.А., Бородич Т.С., Васильев Е.В., Петров В.М., Дедов И.И.*

*ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, Москва, ул Москворечье, д.1 anatolytulpakov@gmail.com*

Обобщены результаты применения секвенирования нового поколения (платформа PGM, Ion Torrent) у 733 больных с подозрением на моногенную этиологию эндокринопатии. Используются оригинальные панели праймеров Ion Ampliseq по следующим нозологическим группам: «Диабет и гиперинсулинизм» (27 генов, 238 больных), «Гипотиреоз» (23 генов, 242 больных), «Гипопитуитаризм» (21 ген, 121 больных), «Гипогонадизм» (30 генов, 33 больных), «Рахит» (22 гена, 45 больных), «Липодистрофии» (16 генов, 33 больных), «Аденомы гипофиза» (15 генов, 21 больных). Распространённость патогенных мутаций в указанных группах варьировала от 16% (аденомы гипофиза) до 72% (рахитоподобные заболевания). В ряде случаев (0–9%) заболевание было ассоциировано с мутациями в двух и более генах. Результаты свидетельствуют в целом о высокой эффективности метода при проведении молекулярно-генетической диагностики моногенных эндокринопатий.

### Случай выявления inv(3)(q21q26) в Ph-негативных клетках костного мозга у больного хроническим миелолейкозом с развитием миелодиспластического синдрома и трансформацией в острый миелоидный лейкоз

*Удовиченко А.И., Клеина И.В., Гребенюк Л.А., Колосова Л.Ю., Плискунова Ю.В., Обухова Т.Н.*

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

Больному 45 лет, проживающему в Казахстане, в июле 2004 г. установлен диагноз хронического миелолейкоза (ХМЛ) в стадии акселерации. При кариотипировании клеток костного (КМ) выявлена транслокация t(9;22)(q34;q11). В связи с невозможностью обеспечить больного иматинибом мезиламом (ИМ) в адекватных дозах по месту жительства, он начал получать препарат в дозе 600 мг только в феврале 2008 г. В сентябре 2008 г. достигнут полный цитогенетический ответ: методом FISH с ДНК-зондом к bcr/abl не выявлено t(9;22)(q34;q11). Через 2,5 года после начала терапии ИМ, в сентябре 2010г., в кариотипе клеток КМ зарегистрирована хромосомная аномалия (ХА) inv(3)(q21q26), что подтверждено обнаружением перестройки в локусе гена *EVI 1* методом FISH с использованием соответствующего ДНК-зонда. Транслокации t(9;22)(q34;q11) как в этот период, так и за весь период дальнейшего наблюдения, не обнаружено ни при кариотипировании клеток КМ, ни при FISH-анализе. Появление inv(3)(q21q26) в Ph-негативных клетках КМ пациента было ассоциировано

с развитием признаков миелодиспластического синдрома (МДС): первоначально с резистентной лейкопенией, затем присоединились анемия и глубокая тромбоцитопения. Эти симптомы прогрессировали на протяжении последующих 3,5 лет на фоне персистенции в клетках КМ inv(3)(q21q26). В феврале 2014 г. при гистологическом и иммуногистохимическом исследованиях КМ выявлена картина острого миелоидного лейкоза (ОМЛ), а с учётом обнаруженных признаков дисмегакариоцитопоза было предположено развитие ОМЛ из МДС. Больной погиб от прогрессирования ОМЛ при проведении курсов химиотерапии перед аллогенной ТКМ.

К настоящему моменту в литературе описано 23 случая развития МДС или ОМЛ у леченных ИМ больных ХМЛ с выявлением ХА в Ph-негативном клоне клеток КМ. Описаний inv(3)(q21q26) в такой группе больных в литературе нет.

### Стерджа—Вебера—Краббе синдром: аспекты диагностики

**Федяков М.А.<sup>1</sup>, Ледящева Т.А.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова

<sup>2</sup> СПб ГКУЗ Диагностический центр (медико-генетический) 194044, Россия, Санкт-Петербург, ул. Тобольская, 5  
E-mail: krem174@mail.ru

Стерджа—Вебера—Краббе синдром (СВК) (MIM: 185300) — системный гемангиоматоз, включающий триаду симптомов: врождённый односторонний «пламенеющий» невус на лице, сосудистую мальформацию оболочек мозга, поражение сосудов глаз. Частота патологии варьирует от 1 : 20 000—50 000 до 1 : 5000 живорождённых, а среди больных с умственной отсталостью (УО) составляет 1:1000. Вероятность развития СВК у новорождённых с гемангиомами ~6%, локализация врождённого порока развития сосудов (ВПРС) в области глазничной ветви тройничного нерва повышает риск до 26%. Учитывая широкий спектр гемангиоматозов, сложность дифференцирования, отсутствие молекулярно-генетической диагностики, актуальной остается клиническая верификация диагноза.

Целью работы являлось уточнение распространённости кожных проявлений, выраженности неврологических нарушений, тяжести течения и возможностей лучевой диагностики СВК.

Обследовано 59 пациентов с применением диагностического алгоритма, включавшего клиничко-неврологические, лучевые (КТ головного мозга, МРТ с контрастным усилением и в ангиографическом режиме, НСГ, УЗИ органов брюшной полости и почек), инструментальные (ЭЭГ, гониоскопия глаз) методы.

Поражение области лица выявлено в 74,6% случаев и было представлено односторонним (47,5%) и двусторонним (27,1%) невусами, а также в процесс вовлекались волосистая часть головы (25,4%), шея (28,8%), конечности и туловище (37,3%). У 25,4% больных ВПРС лица отсутствовал. По данным лучевых исследований, односторонний менингеальный ангиоматоз диагностирован в 5,1% случаев, двусторонний — в 1,7%. Неврологические изменения были представлены судорожными припадками (35,6%), гемипарезом (3,4%), задержкой психомоторного развития и УО различной степени выраженности (28,8%). 13,6% больных страдали глаукомой.

### Генетические аспекты преэклампсии

**Фетисова И.Н., Малышкина А.И., Панова И.А., Рокотьянская Е.А., Назарова А.О., Ратникова С.Ю., Смирнова Е.В., Фетисов Н.С., Гордеева А.В.**

ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Гордкова» Минздрава РФ  
153045, г. Иваново, ул. Победы, 20  
ivgenlab@gmail.com

Преэклампсия (ПЭ), одно из самых тяжёлых осложнений в акушерстве, в настоящее время рассматривается как мультифакториальное заболевание, в развитии которого участвует множество генетических и средовых факторов. Нами проведено исследование полиморфизма генов, ассоциированных с риском развития артериальной гипертензии (*ADD1* G1378T, *AGT* T704C, *AGT* C521T, *AGTR1* A1166C, *AGTR2* G1675A, *CYP11B2* -344T/C, *GNB3* C825T, *NOS3* -786T/C), у 50 женщин с преэклампсией и 49 женщин с физиологическим течением беременности методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Установлено достоверное увеличение частоты встречаемости у женщин с осложненным течением беременности по сравнению с контролем аллелей *AGTR1* 1166C (35,19 и 10,71% соответственно,  $p = 0,003$ , OR = 4,268 (1,686—10,805), *AGTR2* 1675A (74,14 и 32,69% соответственно,  $p = 0,001$ , OR = 5,693 (2,604—12,446), генотипа *NOS3* -786T/C (54,00 и 32,65%,  $p = 0,032$ , OR = 2,376 (1,076—5,244).

Наличие полиморфизмов генов-регуляторов сосудистого тонуса (ренин-ангиотензиновой системы и эндотелиальной синтетазы оксида азота), предрасполагающих к гипертензионным осложнениям, существенно повышает риск развития осложненного течения беременности.

### Прогностическое значение снижения индивидуального уровня *BCR-ABL* в течение первых трёх месяцев терапии для достижения большого молекулярного ответа у больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ) в хронической фазе (ХФ)

**Фоминых М.С.<sup>1</sup>, Шуваев В.А.<sup>1</sup>, Абдулкадыров К.М.<sup>1</sup>, Туркина А.Г.<sup>2</sup>, Мартынкевич И.С.<sup>1</sup>, Цаур Г.А.<sup>3</sup>, Бедерак Н.В.<sup>4</sup>, Чельшева Е.Ю.<sup>2</sup>, Шухов О.А.<sup>2</sup>, Абдуллаев А.О.<sup>2</sup>, Удальева В.Ю.<sup>1</sup>, Головченко Р.А.<sup>1</sup>, Зотова И.И.<sup>1</sup>, Шихбабаева Д.И.<sup>1</sup>, Полушкина Л.Б.<sup>1</sup>, Петрова Е.В.<sup>1</sup>, Мартыненко Л.С.<sup>1</sup>, Клеина Е.В.<sup>1</sup>, Цыбакова Н.Ю.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии ФМБА», Санкт-Петербург

<sup>2</sup> ФГБУ «Гематологический научный центр МЗ РФ», Москва

<sup>3</sup> ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница №1», г. Екатеринбург

<sup>4</sup> МБУ «Центральная городская больница №7», г. Екатеринбург

Больные ХМЛ представляют собой гетерогенную группу и последние исследования ведущих клинических центров в первую очередь направлены на персонализацию терапии, основанную на индивидуальных характеристиках больного. Целью нашей работы было изучение прогностического значения снижения индивидуального уровня *BCR-ABL* химерного гена в течение первых трёх месяцев терапии ингибиторами тирозинкиназ (ИТК). В исследование включено 55 пациентов в ХФ ХМЛ. В качестве терапии первой линии больные получали: Иматиниб 400 мг/сут. ( $n = 42$ ), Нилотиниб 600 мг/сут. ( $n = 12$ ) и Дазатиниб ( $n = 1$ ). Уровень относительной экспрессии *BCR-ABL* гена определяли в момент диагностики, на 3, 6 и 12 мес. терапии. Было оценено отношение уровня экспрессии *BCR-ABL* гена на 3 месяца терапии ИТК к уровню на момент диагностики; частота достижения пациентами раннего молекулярного ответа на 3 месяца лечения ( $BCR-ABL \leq 10\%$ ) и БМО на 12 мес. терапии.

Двадцать шесть из 34 пациентов (76,5%) с отношением уровня *BCR-ABL* <0,1 достигли БМО к 12 месяцам терапии. Только 9 из 21 (42,9%) пациентов с отношением уровня *BCR-ABL* >0,1 достигли оптимального ответа на 1 год терапии (OR = 0,41 (0,20—0,84);  $p = 0,03$ ). При разделении этих же больных в зависимости от наличия раннего молекулярного ответа на 3 мес. терапии ( $BCR-ABL < 10\%$  IS) получены следующие ре-



зультаты: 34 из 47 (72,3%) пациентов с уровнем  $BCR-ABL \leq 10\%$  достигли БМО к 12 мес. лечения, в то время как только 2 из 8 (25%) больных с уровнем  $BCR-ABL > 10\%$  к 3 мес. терапии достигли БМО на 1 год ( $OR = 0,96$  (0,6228—1,4938);  $p = 0,78$ ). Таким образом, индивидуальная скорость снижения уровня  $BCR-ABL$  в течение первых трёх месяцев терапии по отношению к начальному индивидуальному уровню может быть использована как прогностический маркер вероятности достижения БМО на 12 мес. терапии.

### Связь полиморфных вариантов генов экстрацеллюлярного матрикса с риском развития пролапса тазовых органов

Хаджиева М.Б.<sup>1</sup>, Камоева С.В.<sup>2</sup>, Иванова А.В.<sup>2</sup>,  
Абилев С.К.<sup>1</sup>, Сальникова Л.Е.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН ИОГен РАН 119991, ГСП-1 ул. Губкина, д. 3, Москва, Россия

E-mail: m.had@mail.ru

<sup>2</sup> ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, ул. Островитянова, д. 1, Москва, Россия

Пролапс тазовых органов (ПТО) — это распространённое мультифакториальное заболевание, характеризующееся опущением и выпадением органов малого таза вследствие перерастяжения или повреждения тканей связочного аппарата матки и тазового дна. В настоящее время в качестве возможных кандидатов, вовлечённых в патогенез ПТО, рассматривают гены экстрацеллюлярного матрикса, участвующие в синтезе и соединении эластических волокон: фибулин 5 (*FBLN5*), ген лизиноксидазоподобного белка (*LOXL1*) и фибулин 3 (*FBLN3*). Несмотря на достаточное количество работ, доказывающих важную роль белков *FBLN5*, *FBLN3* и *LOXL1* в развитии ПТО, имеется крайне скудная информация по изучению ассоциации полиморфных вариантов соответствующих генов с риском развития заболевания. В исследовании приняли участие 210 женщин с ПТО II—IV стадии по системе POP-Q (основная группа) и 292 без генитального пролапса (контрольная группа); средний возраст в группах  $57,65 \pm 10,80$  и  $57,25 \pm 12,70$  года соответственно. Выбор сайтов для ассоциативного исследования ПТО был основан на использовании ресурса NaploView (version 4.2) для подбора целевых (tag) SNP с целью покрытия всего гена. Методом тетра-праймерной аллель-специфической ПЦП пациентки были прогенотипированы по девяти tagSNP гена *FBLN5* (rs2430339, rs12586948, rs2284337, rs2498841, rs2018736, rs12589592, rs2430369, rs2245701, rs2474028); трём tagSNP гена *LOXL1* (rs893821, rs2165241, rs2304719) и четырём tagSNP гена *FBLN3* (rs3791679, rs1367228, rs3791660, rs2033316); все изученные варианты находились в состоянии равновесия по Харди—Вайнбергу. При статистической обработке всей выборки был выявлен протективный rs12589592-А и рисковый rs2018736-С аллели (рецессивная модель,  $P = 0,0026$ ,  $OR = 0,42$ , 95% ДИ: 0,24—0,75; аддитивная модель,  $P = 0,032$ ,  $OR = 1,37$ , 95% ДИ: 1,03—1,84 соответственно) для гена *FBLN5*, а также рисковый rs2304719-Т аллель для гена *LOXL1* (доминантная модель,  $p = 0,0025$ ,  $OR = 1,87$ , 95% ДИ: 1,24—2,810). Кроме того, нами была обнаружена связь аллелей rs12586948-А, rs2018736-С, rs12589592-А, rs2474028-Т гена *FBLN5* и rs2304719-Т гена *LOXL1* с развитием ПТО в стратах, формируемых по основным факторам риска (наличие родовых травм, макросомия плода и неодинократные роды).

### Диагностика наследственных кардиологических заболеваний методом экзомного секвенирования

Харлап М.С., Мешков А.Н., Щербакова Н.В.,  
Суворова А.А., Жанин И.С., Хлебус Э.Ю.,  
Мясников Р.П., Базаева Е.В., Бойцов С.А.

ФГБУ «Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины» Министерства здравоохранения РФ  
Петроверигский пер., д.10, Москва, РФ  
MKharlap@gnicpm.ru

Сердечно-сосудистые заболевания занимают главенствующие позиции в структуре заболеваемости и смертности в России. Значительное число случаев сердечно-сосудистых заболеваний обусловлено наследственными причинами, в том числе моногенными. Определение патогенной мутации влияет в ряде случаев на выбор тактики лечения пациента. Экзомное секвенирование — новый метод генетической диагностики, выявляющий мутации в кодирующей области генома.

Цель работы: отработка алгоритмов определения патогенных мутаций, ответственных за развитие моногенных кардиологических заболеваний методом экзомного секвенирования.

В исследование включено 25 неродственных пациентов с фенотипом моногенных кардиологических заболеваний с высоким риском внезапной сердечной смерти (семейная гиперхолестеринемия, синдром удлинённого интервала QT, катехоламинэргическая полиморфная желудочковая тахикардия). Секвенирование образцов проводили на приборе SOLID 5500XL (Life Technologies, США), экзомное обогащение проводили с применением набора TargetSeq Exome. Картирование и поиск однонуклеотидных полиморфизмов, коротких вставок и делеций были осуществлены с помощью пакета программ LifeScore. Найденные мутации были проаннотированы с помощью программы ANNOVAR, и проведено сравнение с рядом специализированных баз данных с использованием набора исполняемых команд на языке программирования R.

У 19 пациентов выявлены патогенные мутации, ответственные за развитие моногенной патологии, у 6 пациентов патогенные мутации не определялись.

Экзомное секвенирование — современный и универсальный подход для диагностики различных моногенных заболеваний. Умеренная цена и высокая скорость проведения генетической диагностики делают возможным использование данного подхода в практическом здравоохранении.

### Генетическое разнообразие в популяциях человека: корреляция с климато-географическими параметрами и деканализация в ходе расселения из Африки

Харьков В.Н., Степанов В.А.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской генетики»

634050, г.Томск, Набережная р. Ушайки, д. 10  
vladimir-kharkov@medgenetics.ru

Проблема адаптивной эволюции генофонда человечества и поиска следов естественного отбора является одной из наиболее актуальных в популяционной генетике человека и медицинской генетике. Изменение структуры генофондов популяций человека в ходе расселения из африканской прародины происходило под значительным влиянием средовых факторов. Влияние естественного отбора в разных климато-географических условиях с одной стороны, обуславливало адаптивную эволюцию различных систем генов, с другой играло важную роль в формировании подверженности распространению ряда болезней в современных популяциях человека. Для выявления связи частот аллелей около 180 тыс. SNP в 79 мировых популяциях, с климато-географическими показателями мы выполнили корреляционный анализ генетических данных с широтой, высотой над уровнем моря, среднегодовой температурой, средней температурой января и июля, максимальной разбросом температур, максимальной и минимальной температурой и количеством осадков. В результате было показано, что

генетическая вариабельность популяций по целому ряду SNP, достоверно коррелирует с климато-географическими параметрами в значительно большей мере, чем для большинства других. Были выявлены около 1 тыс. SNP, распределённые по генному и принадлежащие областям примерно 450 генов, высокодостоверно ( $p < 1 \times 10^{-8}$  с поправкой FDR для полногеномного анализа) ассоциированные с ключевыми климатическими факторами и широтой. Уровень генетического разнообразия и генетической дифференциации популяций по этим SNP существенно отличается от среднего по геному. Анализ генетических взаимоотношений между мировыми популяциями по этим маркерам также демонстрирует значительные различия, как с нейтральными генетическими маркерными системами, так и с результатами по всему исследованному набору SNP. Полученные результаты могут рассматриваться как свидетельство адаптивных изменений частот аллелей и генотипов в популяциях человека по мере продвижения из Африки, вызванных направленным действием средовых факторов, связанных с климато-географическими условиями среды.

Работа получила поддержку гранта РФФИ №15-04-02442.

### Некоторые генетические аспекты нарушения половой аутоидентификации

Хаят С.Ш.<sup>1</sup>, Черных В.Б.<sup>1</sup>, Близнец Е.А.<sup>1</sup>, Поляков А.В.<sup>1</sup>, Шуганова В.И.<sup>2</sup>, Кибрик Н.Д.<sup>2</sup>, Курило Л.Ф.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва, ул. Москворечье, д.1

<sup>2</sup> МНИИ психиатрии, Москва, ул. Потешная, д.3  
sabina\_hayat@mail.ru

В настоящее время, согласно принятому в 2006 консенсусу по нарушениям формирования пола (Disorders of Sexual Development, Hughes et al., Lee et al.), транссексуализм (ТС) рассматривают как одну из форм нарушения формирования пола. Согласно международному стандарту классификации болезней десятого пересмотра (МКБ-10), ТС относят к расстройству половой аутоидентификации, которое характеризуется стойким осознанием своей принадлежности к противоположному полу (F64.0).

Нами проведено клиническое и цитогенетическое обследование (анализ кариотипа по лимфоцитам периферической крови, GTG-окрашивание) у 36 неродственных пациентов с транссексуализмом. Среди пациентов были 20 женщин и 16 мужчин, возраст варьировал от 12 до 50 лет. С помощью семейного анализа выявлено, что все случаи ТС являлись спорадическими. Не обнаружено синдромальной патологии, не выявило хромосомных аномалий, а также несоответствия кариотипа фенотипу, за исключением одного случая, когда у пациентки был установлен кариотип 46,XY. Эта пациентка имела другую форму нарушения формирования пола и была исключена из наших последующих исследований. Анализ полиморфизма длины CAG-повтора в экзоне 1 гена андрогенового рецептора, *AR/HUMARA* (Xq13) проведён у двух пациенток с Ж→М ТС. Количество CAG-повторов в гене *AR* определяли с помощью количественной флуоресцентной полимеразной цепной реакции. Выявлены следующие генотипы по CAG-полиморфизму гена *AR*: 20/21, 20/23. С помощью анализа метил-чувствительной рестрикции определяли соотношение (%) инактивации различных аллелей X-хромосомы для выявления характера инактивации X-хромосомы (случайного или неслучайного). Преимущественная (неслучайная) инактивация X-хромосомы была выявлена в обоих исследованных случаях (79%/21% и 85%/15% соответственно).

### Молекулярно-генетическое изучение наследственных моторно-сенсорных нейропатий в Республике Башкортостан

Хидиятова И.М.<sup>1</sup>, Сайфуллина Е.В.<sup>2</sup>,  
Магжанов Р.В.<sup>2</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, г.Уфа  
e-mail: imkhid@mail.ru

<sup>2</sup> ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет», г.Уфа

Наследственные моторно-сенсорные нейропатии (НМСН) — генетически гетерогенная группа заболеваний периферической нервной системы. В основе болезни лежат дегенеративные изменения миелиновой оболочки или аксонов двигательных и чувствительных волокон периферических нервов и спинномозговых корешков. В настоящее время картировано более 50 локусов НМСН, идентифицировано 35 генов. Распространённость НМСН различных типов в Республике Башкортостан (РБ) составляет 10.3 на 100000 населения.

Молекулярно-генетическое исследование НМСН в РБ включало анализ семи генов — периферического белка миелина (*PMP22*), структурного белка миелина (*MPZ*), коннексина 32 (*GJB1*), фактора раннего роста (*EGR2*), митофузина 2-го типа (*MFN2*), ганглиозид индуцированного белка 1, ассоциированного с дифференцировкой (*GDAP1*) и гена лёгкой цепи нейрофиламентов (*NEFL*), — у 329 больных из 170 неродственных семей. В результате исследования генетическая причина развития НМСН была установлена, примерно, в 52% неродственных семей. Выявлены региональные и этнические особенности спектра и частот мутаций в исследованных генах.

В общей группе неродственных больных частота НМСН 1А типа, обусловленная дупликацией гена *PMP22*, составила 28% среди всех типов НМСН.

В гене *GJB1* обнаружено 4 мутации: p.Pro87Ala (с.259C>G) (11%), p.Arg22Gln (с.65G>A) (1,8%); p.Arg220Stop (с.658C>T) и p.Thr86Ile (с.257C>T) (0,6%), последняя из которых ранее не описана; частота НМСН 1Х типа, связанная с мутациями в гене *GJB1*, составила 14%.

В гене *MPZ* в одной семье с НМСН 1В типа выявлена миссенс-мутация p.Ser88Leu (с.263C>G) (0,6%).

НМСН 2А типа, связанная с мутациями в гене *MFN2*, составляет около 3%; идентифицированы 4 мутации — p.Val705Ile (с.2113G>A) (1,2%), p.Arg259Cys (с.775C>T) (0,6%), p.Arg259His (с.776G>A) (0,6%), p.Leu724Pro (с.2171T>C) (0,6%), три последние из которых являются новыми.

В гене *GDAP1* выявлены 4 мутации. В пяти семьях с ауто-сомно-рецессивной формой НМСН4А в гетерозиготном состоянии обнаружена ранее не описанная нуклеотидная замена с.685G>A (p.Glu229Lys) в сочетании с гомозиготным генотипом *rs788201*\*C\*C. Мутация p.Leu239Phe (с.715C>T) идентифицирована в двух семьях, в одной из которых, с рецессивной формой НМСН4А — в сочетании с гомозиготным генотипом *rs11554166*\*G\*G, а в другой, с доминантной формой НМСН 2К — в сочетании с мутацией p.Cys240Tyr (с.719G>A). Новая мутация p.Ala312Thr (с.934G>A) выявлена в гетерозиготном состоянии в одной семье с доминантной формой НМСН 2К. Вклад НМСН, связанных с мутациями в гене *GDAP1*, в общую структуру заболевания в РБ составляет около 5%.

В гене *NEFL* идентифицирована одна новая мутация — с.488A>T (p.Glu163Val) в семье с доминантной демиелинизирующей формой НМСН 1F (0,6%).

В гене *EGR2* у наших больных изменений не обнаружено.

Разработан оптимальный алгоритм молекулярно-генетической диагностики у больных с НМСН из РБ.

## Анализ генов *CRYAA*, *GJA3* и *GJA8* у пациентов с наследственными врождёнными формами катаракты из Республики Башкортостан

Хидиятова И.И.<sup>1</sup>, Хидиятова И.М.<sup>1</sup>,  
Азнабаев М.Т.<sup>2</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, г.Уфа  
\*imkhid@mail.ru

<sup>2</sup> ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет», г.Уфа

Наследственные врождённые катаракты (НБК), нередко приводящие к слепоте, фенотипически и генетически гетерогенны, чаще наследуются по аутосомно-доминантному, реже — по аутосомно-рецессивному и X-сцепленному типам. Картировано 45 генных локусов, сцепленных с наследственными формами катаракты, идентифицировано 38 генов. К наиболее частым причинам развития НБК относятся мутации в генах кристаллинов и коннексинов. Целью данного исследования являлось определение спектра и частоты мутаций в генах альфа-кристаллина А (*CRYAA*), коннексина 46 (*GJA3*) и коннексина 50 (*GJA8*) у больных с НБК из Республики Башкортостан. Исследование методом прямого секвенирования всех кодирующих последовательностей указанных генов проведено у больных из 40 неродственных семей.

В гене *CRYAA* у трёх неродственных больных с НБК выявлены две новые, ранее не описанные миссенс-мутации: с.253С>Т (р.Leu85Phe) — идентифицирована в семье с аутосомно-доминантной врождённой ядерной катарактой, ассоциированной с микрофтальмом и микрокорнеа; с.291С>G (р.His97Gln) — обнаружена у двух неродственных пациентов с аутосомно-доминантной врождённой изолированной ядерной катарактой. Общий вклад мутаций гена *CRYAA* в развитие НБК в исследуемом регионе составил 7,5%.

В гене *GJA8* у четырёх неродственных пациентов с аутосомно-доминантной врождённой катарактой обнаружены три мутации: с.68G>Т (р.Arg23Thr), 179G>А (р.Gly60Asp) и с.133-142delTGGGGGGATG (р.Trp45SerfsX72), две последние из которых ранее не описаны. При мутации р.Arg23Thr у двух больных диагностированы, соответственно, передняя полярная и ядерная формы катаракты, при мутации р.Gly60Asp — зонкулярная катаракта в сочетании с микрофтальмом и микрокорнеа, при мутации р.Trp45SerfsX72 — передняя полярная катаракта. Вклад НБК, обусловленной мутациями в гене *GJA8*, в структуру НБК в РБ составляет приблизительно 10%.

В гене *GJA3* обнаружены две новые мутации — с. G398A (р.Arg133Gln) — у пациента с аутосомно-доминантной зонлярной катарактой, сочетающейся с микрокорнеа, и с.del1126\_1139 — у больного с аутосомно-доминантной изолированной зонлярной катарактой. Вклад наследственной катаракты, обусловленной мутациями в гене *GJA3*, в структуру НБК в РБ составил 5%.

Работа частично финансирована грантом РФФИ №14-04-97007р\_Поволжье\_а.

## Вариабельность генов, ассоциированных с ожирением, в популяциях России и сопредельных стран

Хитринская И.Ю., Харьков В.Н., Степанов В.А.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской генетики»

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

i.khitrinskaya@medgenetics.ru

Распространённость ожирения и связанных с ним заболеваний, достигла во всем мире высоко уровня. Ниль генетических факторов в развитии заболевания доказана многочислен-

ными исследованиями на близнецах и приёмных детях, тестированием генов-кандидатов предрасположенности к ожирению. Один из современных методов, применяемых для выявления мутаций, связанных с избыточной массы тела — это полногеномный анализ ассоциаций (GWAS — Genome-wide association studies).

Мы выбрали из каталога GWAS (A Catalog of Published Genome-Wide Association Studies) 21 SNP, для которых показана ассоциация с ожирением и проанализировали частоты этих SNP в 14 популяциях России (якуты, буряты, тувинцы, коми, мордва, русские, ханты, кеты, чуваша, кабардинцы, карачаевцы, осетины, татары, удмурты, карелы) и сопредельных стран (казахи, узбеки, киргизы, мегрелы, молдаване). Генотипы образцов были выбраны из генотипических данных микрочипов Illumina 600K. Также привлекались данные представленные в базе данных MapMap.

Мы выполнили корреляционный анализ Спирмана для выявления связи частот аллелей с климато-географическими показателями, которые включают в себя широту, долготу, высоту над уровнем моря, среднегодовую температуру, среднюю температуру января, среднюю температуру июля, максимальный разброс температур, максимальная и минимальная температура, количество осадков в год. Частота аллелей 16 из 20 изученных SNP коррелируют с климато-географическими параметрами. 5 SNP показали корреляцию только с широтой (rs762430, rs1805081, rs7138803, rs2531995, rs11042023), 6 — с широтой и климатом (rs1704198, rs9299, rs10182181, rs6110577, rs999943, rs7603514), 5 — только с климатом (rs3101336, rs7784447, rs259067, rs2275848, rs7474896). Выявленные связи могут свидетельствовать о наличии направленного естественного отбора по генам, ассоциированным с ожирением, и адаптивным изменениям в генофонде популяций в ходе расселения человека из Африки.

## Клинико-генетическая характеристика врождённой изолированной аниридии в России

Хлебникова О.В.<sup>1</sup>, Васильева Т.А.<sup>1</sup>, Поздеева Н.А.<sup>2</sup>,  
Воскресенская А.А.<sup>2</sup>, Петрова Н.В.<sup>1</sup>, Зинченко Р.А.<sup>1,3</sup>,  
Гинтер Е.К.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1, e-mail: khlebnikova@med-gen.ru

<sup>2</sup> Чебоксарский филиал ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. С.Н. Федорова» МЗ РФ, 428028, г.Чебоксары, пр. Тракторостроителей, д. 10

<sup>3</sup> ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, Москва, ул. Островитянова, д.1

<sup>4</sup> ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» МЗ РФ, 125993, Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1

Аниридия (А.) (OMIM, 106210) — врождённый аутосомно-доминантный порок развития с полным/частичным отсутствием радужки, обусловлен мутациями в гене *PAX6* (607108).

Цель работы — изучить клинико-генетические особенности А. у больных из РФ.

Полное офтальмологическое обследование проведено 31 пациенту с А. без сопутствующей синдромной патологии из 26 неродственных семей. В 90% случаев определена врождённая полная А. обоих глаз. Кодирующий регион гена *PAX6* проанализирован методами прямого двунаправленного секвенирования и MLPA (MRC Holland SALSA MLPA probmix P219-B2 PAX6).

Для российских пациентов с А. характерными являются: сопутствующая патология органа зрения в виде врождённых катаракт (70%), гипоплазия, дисплазии макуляной области дисков зрительных нервов (47%) и сопутствующая патологии других органов (67%). 15% составили семейные случаи. Выявлен спектр мутаций гена *PAX6*. У 19 пациентов с А. обнаружены



точковые изменения: миссенс (p.Glu7Arg, p.Gln47Arg), нонсенс (p.Arg103Ter, p.Gln171Ter, p.Arg203Ter, p.Arg240Ter, p.Arg261Ter), индел (с.449\_453delACGGGinsCCGGAAC), инсерция (с.295\_298 dup CTTT), делеции (с.1047\_1050delCCAG, с.879delC) и нарушения сайта сплайсинга (с.1032+6T>G, с.-128-2delA), 6 — впервые обнаруженные дефекты. В 11 случаях определены протяжённые хромосомные делеции, охватывающие или несколько экзонов гена *PAXB*, или весь ген и близлежащие области короткого плеча хромосомы 11, или же соседние с *PAXB* регионы. В 3 неродственных семьях обнаружена мутация p.Arg203Ter, у 4 неродственных больных определена обширная делеция hg19:chr11:31307603\_31650221del. Больные с крупными хромосомными перестройками *de novo* составляют половину спорадических случаев А. и треть всей исследованной выборки.

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

### Клинический случай поздней диагностики туберозного склероза

**Хорошевская Я.А.<sup>1,2</sup>, Лисиченко О.В.<sup>2</sup>, Максимова Ю.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> ГБУЗ Новосибирской области Городская клиническая больница №1 630075 г.Новосибирск, ул.Залесского 6  
xoroshevskaya@gmail.com

<sup>2</sup> ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России.

Туберозный склероз (ТС) — генетически детерминированное заболевание с аутосомно-доминантным типом наследования, относится к факотомозам и характеризуется специфическим поражением нервной системы, кожи, внутренних органов с формированием доброкачественных опухолей. Большинство случаев ТС является следствием мутации *de novo*. Развитие туберозного склероза определяется двумя генами, локализованными на 9 и 16 хромосомах, кодирующих белки гамартин (TSC1) и туберин (TSC2), соответственно. Частота, составляет 1 : 30 000 взрослого населения и 1 : 6000—10 000 — новорождённых. Частым первым проявлением ТС у плодов и новорождённых является поражение сердечно-сосудистой системы в виде рабдомиом, которые, как правило, локализованы интра/экстрамурально в желудочках сердца и составляют 60% случаев ТС. Диагностируются они уже на сроке 22—24 недели беременности чаще у плодов мужского пола.

**Клинический случай.** Приводим случай поздней диагностики ТС у женщины 36 лет при наличии развернутой клинической картины. В родильное отделение был вызван генетик для консультации новорождённого мальчика с рабдомиомой сердца расположенной на межжелудочковой перегородке и пролабировавшей в правый желудочек, диагностированной при УЗИ в 22 недели беременности. Пробанд от 4 беременностей, 4-х родов. Беременность протекала без осложнений. Предыдущие беременности закончились родами. При осмотре матери пробанда: ангиокератомы, множественных околоногтевых фибромы, участки «шагреновой кожи», гипопигментные пятна и пятна «конфетти», фибромы дёсен. Из семейного анамнеза: подобные кожные изменения наблюдаются у бабушки пробанда по материнской линии. Инструментальные данные: на МРТ — корковые туберсы, субependимальные узлы, при УЗИ — множественные гемангиомы печени, множественные миомы матки, множественные кисты обеих яичников, почек. Учитывая данные осмотра, семейный анамнез, данные инструментальных методов впервые был выставлен диагноз туберозный склероз. У двух других её детей имеются характерные признаки ТС. Им была оказана медико-генетическая помощь.

### Результаты молекулярно-генетической диагностики спинальной мышечной атрофии в Казахстане

**Хорошилова И.Г.<sup>1</sup>, Березина Г.М.<sup>1</sup>**

Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии МЗ РК Казахстан, г.Алматы, пр.Достык, 125  
respimgk@mail.ru

Спинальная мышечная атрофия (СМА) — нервно-мышечное заболевание, характеризующееся дегенерацией спинного мозга передних рогов клеток, что приводит к атрофии мышц. Заболевание наследуется по аутосомно — рецессивному типу. Существует 3 типа СМА в зависимости от возраста начала и клинической тяжести: 1 тип — Верднига — Гоффмана, 2 тип — промежуточный, 3 тип — Кугельберга — Веландера.

Ген спинальной мышечной атрофии (*SMN*) картирован на хромосоме 5q13. Причиной заболевания является делеция последовательности генов *SMN1* и его гомолога (псевдогена *SMNc*) в области 7 и/или 8 экзонов.

Цель исследования: оценить эффективность молекулярно-генетической диагностики СМА у пациентов Республики Казахстан (РК).

Молекулярный анализ был проведён 19 пациентам с клиническими признаками СМА, методом ПЦР с использованием набора праймеров производства ООО «Центр молекулярной генетики». Анализ позволяет выявить делеции 7 и/или 8 экзонов гена *SMN1*.

Проведение молекулярно-генетической диагностики СМА в РК было начато в июле 2014 г. У 11 пациентов были выявлены делеции 7 и/или 8 экзонов гена *SMN1*. Диагностика оказалась информативной в 57,8%. Из них, 4 пациента имели клинический диагноз СМА 1 тип Верднига—Гоффмана; 2 пациента — СМА тип 2 промежуточная форма; 2 пациента — СМА тип 3 Кугельберга—Веландера и 3 пациента с синдромом «вялого ребёнка» и подозрением на СМА.

### Триметиламинурия в клинической практике

**Хохова А.В.<sup>1</sup>, Ледящева Т.А.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И.Мечникова  
<sup>2</sup> СПб ГКУЗ Диагностический центр (медико-генетический), Санкт-Петербург  
194044, Россия, Санкт-Петербург, ул. Тобольская, 5  
E-mail: alansio89@mail.ru

Триметиламинурия (ТМАУ) (синоним: синдром рыбного запаха), (MIM: 602079; МКБ-10: E88.8) — редкое метаболическое расстройство с аутосомно-рецессивным типом наследования. Частота ТМАУ вариабельна и составляет от 0,5% до 11%. Основой патологии является нарушение катаболизма триметиламина (ТМА), продукта расщепления пищевого холина, карнитина и лецитина с участием кишечной микрофлоры. Причина развития ТМАУ — мутация в гене флавин-зависимой монооксигеназы (*FMO3*; 1q24.3), фермента, играющего ключевую роль в метаболизме ТМА. Ген *FMO3* состоит из 9 экзонов и расположен на длинном плече 1 хромосомы. Основным симптомом ТМАУ является характерный рыбный запах от кожи, слизистых, пота, мочи, усиливающийся в динамике. Диагностика заболевания включает клинические, лабораторные (определение концентрации свободного ТМА и его окисленной формы в моче) и молекулярно-генетические исследования (секвенирование гена *FMO3*). Лечение включает диету (исключение продуктов, содержащих холин, лецитин, триметиламин N-оксид), приём рибофлавина — кофактора фермента *FMO3*, повышающего его остаточную активность, а также антибактериальная терапия, способствующая снижению активности микрофлоры кишечника и подавляет продуцирование ТМА.

Мы наблюдали двух больных, 4 и 5 лет, с идентичной клинической картиной. В обоих случаях матери пробандов состояли на учёте в МГЦ с раннего срока беременности. Проводилась

хорионбиопсия: в первом случае плановая — анамнез был отягощен трисомией X у сибса пробанда; во втором — в связи с выявленными биохимическими и ультразвуковыми маркерами хромосомной патологии. Хромосомные болезни исключены. В обоих случаях отмечалась задержка внутриутробного развития плодов. Девочки родились с признаками гипотрофии, в динамике — задержка физического развития. Многократно обследовались стационарно по поводу гастропатологии. Неспецифическая терапия — без эффекта. С 3 и 4 лет родители детей отметили постоянный неприятный запах от кожи, волос, пота, который усиливался с возрастом. При осмотре резкий специфический рыбный запах от кожи, волос. Предполагается ТМАУ, назначено лечение, на фоне которого рыбный запах нивелировался.

### Молекулярно-генетическое изучение постменопаузального остеопороза у женщин из Волго-Уральского региона России

Хусаинова Р.И., Хуснутдинова Э.К.

ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа  
riakh@mail.ru

Постменопаузальный остеопороз — наиболее частая форма первичного остеопороза, у каждой третьей женщины в климактерический период возникают остеопоретические переломы, характеризуется снижением минеральной плотности, микроархитектурными нарушениями костной ткани, занимает значимое место среди заболеваний с высокой инвалидизацией и смертностью и является одной из значимых проблем здравоохранения. Изучение генетических основ заболевания с учётом региональных и этнических факторов направлено на разработку эффективных методов диагностики и профилактики остеопороза.

Проведено изучение 149 локусов, расположенных на всех хромосомах человека, кроме Y хромосомы (генотипирование 100 локусов осуществлялось в рамках исследований международного консорциума «GEFOS») у 882 женщин русской и татарской этнической принадлежности, проживающих в Республике Башкортостан и Свердловской области. Исследование проводилось с использованием двух подходов: изучение полиморфных вариантов кандидатных генов и репликация результатов GWAS исследований, включая исследования генетических и эпигенетических факторов (полиморфизм сайтов связывания микроРНК).

В результате исследования кандидатных генов обнаружена значимость полиморфных вариантов *rs2412298* и *rs1800012* (*COL1A1*), *rs2228570* (*VDR*), (*TAA*)<sub>n</sub> гена *DBP* в развитии переломов у женщин русской этнической принадлежности, *rs3102734* и *rs3134069* (*OPG*), *rs2118784* (*CYP19A1*) у женщин татарского происхождения, локусы *rs2277268* (*LRP5*), *rs2412298* (*COL1A1*), *rs9340799* (*ESR1*) ассоциированы с низким уровнем МПКТ.

Репликация результатов GWAS исследований показала, что с переломами в общей выборке ассоциированы локусы *rs5926033* (Xp22.11), *rs227584* (*C17orf53*) и *rs4869742* (*C6orf97*), *rs163879* — вблизи гена *DCDC5*, *rs13272568* — вблизи гена *PKIA*; у татар — локусы *rs6959212* вблизи гена *STARD3NL*, *rs1566045* (*SALL1*), *rs7812088* (*ABCF2*) и *rs2016266* (*SP7*); у русских — *rs2295294* (*UBE4B*), *rs4820539* (*RTDR1*), *rs1864325* вблизи гена *MART*, *rs4957742* рядом с геном *EFNA5*, *rs12995369* (*CDK15*), *rs17284960* (*Sq34*) и *rs11788458* (*qg31.3*).

Обнаружена ассоциация локусов *rs4792909* (*SOST*), *rs1286083* (*RPS6KA5*), *rs1026364* (*KIAA2018*) с низкой МПКТ в общей выборке, у русских также *rs4792909*, *rs1286083*, *rs7217932* и *rs964181* и локус *rs5934507* вблизи гена *FAM9B*, у татар — *rs7257450* (*PLVAP*), *rs4817775* (*CBR3*), *rs4492531* (*MAGEE2*), *rs479336* (*DNM3*), *rs13272568* (*PKIA*), *rs4820539* (*RTDR1*) и *rs730402* (*BCL11A*).

Установлена ассоциация полиморфных вариантов сайтов связывания микроРНК с переломами: *rs10793442* (*ZNF239*) — у женщин татарской, *rs10098470* (*TPD52*) — русской этнической принадлежности. С низким уровнем МПКТ ассоциирован локус *rs10793442* (*ZNF239*) в общей выборке и у женщин русской этнической принадлежности.

Таким образом, выявлены генетические маркеры, общие для двух эндотипов остеопороза, так и специфические для переломов и низкого уровня МПКТ, большинство из которых расположены в генах, кодирующих белки, участвующие в RANK-RANKL-OPG, Wnt сигнальных путях, дифференциации мезенхимальных стволовых клеток, однако есть локусы, расположенные в межгенных участках и в генах с неизвестной ролью в костной биологии.

### Определение минимальной остаточной болезни в костном мозге и периферической крови при остром лимфобластном лейкозе у детей первого года жизни

Цаур Г.А.<sup>1,2,3</sup>, Ригер Т.О.<sup>1,2</sup>, Попов А.М.<sup>1,2</sup>,  
Наседкина Т.В.<sup>4</sup>, Кустанович А.М.<sup>5</sup>, Солодовников А.Г.<sup>2,3</sup>,  
Стрелева О.В.<sup>1,2</sup>, Шориков Е.В.<sup>1,2</sup>, Савельев Л.И.<sup>1,2,3</sup>,  
Фечина Л.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Областная детская клиническая больница №1, Екатеринбург,  
С. Дерябиной, 32  
tsaur@mail.ru

<sup>2</sup> Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург,  
К. Маркса, 25

<sup>3</sup> Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Екатеринбург, Репина, 3

<sup>4</sup> Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, Вавилова, 32

<sup>5</sup> Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии Министерства Здравоохранения Республики Беларусь, Боровляны, Фрунзенская, 43

Наличие минимальной остаточной болезни (МОБ) является важным прогностическим фактором при остром лимфобластном лейкозе (ОЛЛ) у детей и взрослых. В подавляющем большинстве работ для определения МОБ используется костный мозг (КМ). Мы провели сравнительную характеристику выявления МОБ в периферической крови (ПК) по сравнению с КМ и оценили прогностическую роль наличия МОБ в ПК и КМ при терапии по протоколу MLL-Baby. В анализ было включено 142 парных образца от 53 пациентов с ОЛЛ и различными перестройками гена *MLL* в возрасте младше 365 дней. Определение МОБ проводили путём выявления химерных транскриптов методом ПЦР в режиме реального времени в 7 последовательных точках наблюдения (ТН), определённых протоколом терапии. Сопоставимость результатов качественного выявления МОБ в КМ и ПК составила 84,5%. При этом во всех 22 (15,5%) дискордантных образцах МОБ была выявлена в КМ, но не в ПК. Несмотря на высокий уровень сопоставимости результатов определения МОБ в ПК и КМ, наличие МОБ в ПК на различных этапах терапии не показало самостоятельной прогностической значимости. Выявленные различия не были связаны с чувствительностью метода, определяемой по величине абсолютной экспрессии гена *ABL*, а скорее всего, отражали реальное распределение опухолевых клеток. В результате проведённого исследования было показано, что использование ПК вместо КМ для мониторинга МОБ при ОЛЛ у детей первого года жизни нецелесообразно. В то же время сохранение МОБ в ТН4 в КМ являлось независимым прогностически неблагоприятным фактором при терапии ОЛЛ у детей первого года жизни по протоколу MLL-Baby (ОО = 7,326 (95% ДИ 2,378–22,565)).

## Комплексная молекулярно-генетическая диагностика нейрофиброматоза

Чаплыгина М.С., Кузнецова Е.Б.<sup>1,2</sup>, Танас А.С.<sup>1,2</sup>, Стрельников В.В.<sup>1,2</sup>, Залетаев Д.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «МГНЦ», Москва, 115478, ул. Москворечье, д. 1  
charlygina.90@mail.ru

<sup>2</sup> ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

Нейрофиброматоз 1 типа (частота 1:2500—3000 новорожденных) и нейрофиброматоз 2 типа (1 на 25 000) — ауто-сомно-доминантные системные заболевания с преимущественным поражением кожи и нервной системы, ассоциированные с мутациями в генах *NF1* и *NF2* соответственно.

Поиск мутаций в генах *NF1* и *NF2* осуществлялся с применением секвенирования нового поколения (NGS) на приборе Ion Torrent PGM (Life Technologies, США). Для выявления протяжённых делеций в генах *NF1* и *NF2* использовали метод MLPA.

Мутации/ген	Ген <i>NF1</i>	Ген <i>NF2</i>
Миссенс-мутации	13	1
Нонсенс-мутации	13	2
Мутации сдвига рамки считывания	9	0
Мутации сайта-сплайсинга	5	0
Однонуклеотидные замены в 3' нетранслируемых областях	0	8
Однонуклеотидные замены в 5' нетранслируемых областях	1	0
Однонуклеотидные замены в интронах до 110 нуклеотидов	9	3

Скрининг мутаций в генах *NF1* и *NF2* методом NGS выполнен у 78 больных, изменения обнаружены в 82% случаев (таблица). Наряду с функционально значимыми мутациями (67%), в большом проценте случаев (33%) были обнаружены замены в 3'- или 5'-нетранслируемых областях, а также в интронах исследуемых генов. Исходя из локализации, сделать однозначный вывод о влиянии этих нарушений на функцию гена сложно.

Для пациентов, у которых не были выявлены мутации или обнаружены структурные изменения с затруднённой интерпретацией, мы провели поиск протяжённых делеций методом MLPA. В результате у 5 (20%) из 25 больных определены делеции всего гена. В одной из семей определена наследственная полная делеция гена *NF1* у пробанда и отца.

Совокупная частота выявления патогенных мутаций в генах *NF1* и *NF2* составила 75%. В 25% случаев молекулярные нарушения исследуемых генов не выявлены или обнаружены замены, не имеющие однозначной трактовки. Исключить патогенный характер нарушений, выявленных в 3'-, 5'-нетранслируемых областях, а также в интронах нельзя, поскольку существуют работы, свидетельствующие о влиянии подобных изменений на развитие ряда заболеваний за счёт нарушения механизмов трансляции и экспрессии гена.

## Популяционные особенности распределения полиморфных вариантов генов, ассоциированных с иммунозависимыми заболеваниями

Чередниченко А.А.<sup>1</sup>, Трифонова Е.А.<sup>1,2</sup>, Вагайцева К.В.<sup>1,2</sup>, Бочарова А.В.<sup>1</sup>, Степанов В.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> НИИ медицинской генетики, 634050, г.Томск, ул. Набережная реки Ушайки, 10  
anastasia.cherednichenko@medgenetics.ru

<sup>2</sup> Национальный исследовательский Томский государственный университет, 634050, г.Томск, пр. Ленина, 36

В исследование включено 44 полиморфных варианта 32 генов, ассоциированных с аллергическими и аутоиммунными за-

болеваниями, регулирующие уровень цитокинов и иммуноглобулина Е, для сравнительного анализа 26 этнических групп Северной Евразии (агулы, гагаузы, коми, бежтинцы, марийцы, молдаване, русские, украинцы, цезы, узбеки, киргизы, казахи, алтайцы северные, алтайцы южные, кеты, тувинцы, буряты, хакасы, ханты, шорцы, эвенки, нивхи, коряки, удэгейцы, чукчи, якуты). Численность общей выборки составила 1228 чел. Генотипирование осуществлено методами ПЦР в режиме реального времени и с помощью мультиплексной ПЦР на масс-спектрометре «MassARRAY System». Статистическая обработка данных проведена в пакете программ ARLEQUIN 3.11 и STATISTICA 7.0. При анализе частотного распределения генотипов равновесия Харди—Вайнберга не показано большого числа отклонений от равновесия отдельно по каждой этнической группе и по локусам генов, отклонение выявлено в 51 случае из 1144 распределений ( $p < 0,05$ ), что не превышает порога допустимого числа отклонений от равновесия. Показано варьирование значения средней ожидаемой гетерозиготности по 44 маркерам в пределах от 0,34 у коряков до 0,41 у узбеков. Анализ селективной нейтральности маркеров генов с помощью теста Эвенса—Ваттерсона выявил 9 селективно нейтральных локусов генов *IL4R* (rs144651842, rs1801275, rs1805015), *IL13* (rs1800925), *IL2RA* (rs2104286), *PTPN22* (rs2476601), *TLR4* (rs4986790), *ITGAM* (rs9888739) *RANBP6*, *LOC100135064* (rs2381416). Изучение межпопуляционных генетических взаимоотношений с помощью метода главных компонент выявило кластеризацию этнических групп относительно их географической локализации, где первые две главные компоненты объясняют 53,45% общей вариативности. Данное исследование свидетельствует о существенной генетической вариативности коренного населения Северной Евразии по изученным генам, выявило генетические взаимоотношения между популяциями, показало селективно нейтральные маркеры генов.

## Опыт внедрения автоматизированных систем прободготовки и анализа препаратов при проведении цитогенетической диагностики в клиничко-диагностической лаборатории генетической клиники ФГБНУ «НИИ медицинской генетики»

Черемных А.Д., Вовк С.Л., Суханова Н.Н., Яковлева Ю.С., Торхова Н.Б., Кушнерова Е.В., Рудко А.А., Назаренко Л.П.

ФГБНУ «НИИ медицинской генетики», г.Томск, Московский тракт, д. 3

Исследование кариотипа человека в диагностических целях методом дифференциальной окраски хромосом с момента введения в клиническую практику и до настоящего времени не претерпело существенных изменений. Как и несколько десятилетий назад, оно представляет собой трудоемкий многоэтапный процесс с высокими требованиями к опыту персонала и низким потенциалом к интенсификации при возрастании потока обследуемых. В 2012 г. в Генетической клинике «НИИ медицинской генетики» было принято и реализовано решение по модернизации технологического процесса приготовления цитогенетических препаратов и их анализа, путём приобретения и внедрения в практику инновационных автоматизированных лабораторных систем. Модернизация подвиглась три наиболее рутинных, трудоёмких и небезопасных с точки зрения охраны труда этапов цитогенетического анализа:

- 1) фиксация клеточных суспензий;
- 2) раскапывание полученных суспензий на предметные стекла;
- 3) поиск и получение цифровых изображений метафазных пластинок.



Были приобретены три автоматизированных комплекса: аппарат для фиксации клеточных культур «Metaphase Harvester HANABI-PI» (ADSTEC, Япония), аппарат приготовления метафазных препаратов «ZenDropper» (ZenTech, Бельгия) и система автоматического поиска метафазных пластинок «Metafer» (Metasystems, Германия). Ввод в эксплуатацию автоматизированных систем позволил существенно сократить трудозатраты лаборантов и врачей-лаборантов за счёт высвобождения от большей части рутинной работы, что в свою очередь позволило увеличить количество рабочего времени, уделяемого непосредственному анализу исследуемых кариотипов. В зависимости от вида цитогенетического анализа, производительность труда одного врача-лаборанта (цитогенетика) возросла от 25% до 50%. Кроме того, применение стандартизованных расходных материалов для используемых комплексов снизило себестоимость одного анализа. Это позволило без ущерба для качества существенно увеличить поток обследуемых, что позволяет говорить о возрастании рентабельности цитогенетической группы клинико-диагностической лаборатории.

### Гоносомный мозаицизм и его роль в нарушении формирования пола и репродукции

**Черных В.Б., Курило Л.Ф., Шилова Н.В., Чухрова А.Л., Поляков А.В.**

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

Мутации половых хромосом (гоносом) — частая причина нарушения дифференцировки пола, развития и функции репродуктивной системы, гаметогенеза. С помощью цитогенетического исследования их выявляют у 30–40% пациентов с нарушением полового развития и у 4–6% пациентов с бесплодием. В случаях нарушения формирования пола (НФП) и дифференцировки гонад может быть несоответствие фенотипического пола набору гоносом без видимых их количественных и структурных мутаций (XX- и XY-инверсия пола). Это вызвано микроструктурными перестройками или точковыми мутациями X-, Y-сцепленных (*SRY*, *SOX3*, *DAX1*), либо аутосомных генов/локусов, контролирующих дифференцировку пола. Зачастую аномалии половых хромосом сопровождаются гоносомным мозаицизмом или возникают вследствие него, а в редких случаях — химеризмом XX/XY. Например, мозаичные формы составляют до 15% синдрома Клайнфельтера и 50% синдрома Шерешевского–Тернера (СШТ). Структурные перестройки (кольцевые, изохромосомы, терминальные делеции, несбалансированные микроструктурные перестройки) хромосом X и Y приводят к митотической нестабильности и как следствие к нерасхождению гоносом и мозаицизму, возникновению постзиготических аббераций, сложному, в том числе динамическому, мозаицизму. Так, Yq11.2 микроделеции обнаружены нами у 25% X/XY мозаиков и всех пациентов с гоносомным мозаицизмом с наличием клона(ов) с дисомией или полисомией Y. Наличие и выраженность гоносомного мозаицизма может определять дифференцировку гонад и форму НФП. Одной из актуальных проблем при этом остается низкопроцентный и скрытый мозаицизм по половым хромосомам, а также часто связанная с ним проблема ошибок генетического обследования. Собственный опыт и данные других исследователей свидетельствуют о ряде случаев (до 10%) неправильного определения кариотипа, минорного/скрытого мозаицизма, происхождения маркёрной хромосомы (X, Y) и типа структурной перестройки и др. Наиболее часто встречаются ошибки или неточности при СШТ, кариотипе 46,XX/46,XY и мозаицизме по хромосоме Y. Точность диагностики особенно важна при определении тактики ведения и лечения больного, хирургической коррекции пола, гонадактомии. Многие случаи мутаций в системе половых хромосом требуют комплексного (цитогенетиче-

ского, молекулярно-цитогенетического и молекулярно-генетического) обследования на различных тканях.

### Исследование экспрессии генов множественной лекарственной устойчивости у пациентов с множественной миеломой до и после проведения цитостатического лечения

**Черных Ю.Б.<sup>1</sup>, Шушанов С.С.<sup>2</sup>, Рыбалкина Е.Ю.<sup>2</sup>, Голенков А.К.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ГБУЗ МО «МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского»,  
РФ, Москва, ул. Щепкина 61/2  
e-mail: yulia\_chernih@mail.ru

<sup>2</sup> ФГБНУ «РОИЦ им.Н.Н.Блохина» РАМН, РФ, Москва, Каширское ш., 23

Цель: определение экспрессии генов, ответственных за развитие множественной лекарственной устойчивости (МЛУ), таких, как *MDR1*, *MRP1*, *LRP*, *BCRP* в аспиратах костного мозга у пациентов с множественной миеломой до начала цитостатического лечения и в группе резистентных пациентов до начала лечения бортезомиб-содержащими программами полихимиотерапии.

В исследование включено 33 пациента (16 мужчин и 17 женщин) с установленным диагнозом множественной миеломы 3 стадии. Возраст пациентов составлял от 50 до 78 лет. 14 пациентов обследовались до начала цитостатического лечения. У 19 пациентов забор костного мозга произведен после цитостатической терапии на момент регистрации резистентности к проведённому лечению. Экспрессию мРНК исследуемых генов определяли полуколичественным методом ОТ-ПЦР в моноуклеарной фракции аспирата костного мозга.

В группе первичных больных даже до начала цитостатического лечения определялась экспрессия мРНК всех изучаемых генов МЛУ. мРНК гена *MDR1* обнаружена в 93% (13/14) исследуемых образцов, мРНК гена *MRP1* выявлена в 79% случаев (11/14), мРНК гена *BCRP* обнаружена в 100% исследованных образцов. Экспрессия мРНК гена *LRP* выявлена в 71% исследуемых случаев (10/14). В группе пациентов после проведения полихимиотерапии экспрессия мРНК генов *MDR1*, *MRP1*, *BCRP* была выявлена в 100% случаев, а мРНК гена *LRP* у 16/19 исследуемых образцов (84%). Уровень экспрессии мРНК каждого из исследуемых генов МЛУ у всех исследованных больных различался. Среднее значение экспрессии суммарно по 4 генам МЛУ в группе первичных больных составило 3,5 балла, после лечения этот показатель возрос до 6,3 балла. Интенсивность экспрессии генов возрастает у резистентных пациентов.

### Анализ кросс-линейных перестроений генов иммуноглобулинов и T-клеточного рецептора при остром лимфобластном лейкозе

**Чернышова Е.В.<sup>1</sup>, Захарова Е.С.<sup>1,2</sup>, Румянцева Ю.В.<sup>1</sup>, Карачунский А.И.<sup>1</sup>, Ларин С.С.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> ФГБУ «ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва  
katia.zotowa2012@yandex.ru

<sup>2</sup> ИБГ РАН, Москва

Несмотря на то, что общая выживаемость больных острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) в настоящее время составляет более 76%, повышение эффективности лечения гемобластозов является важной и актуальной задачей. Одной из ключевых причин неудач в лечении является недостаточность маркёров для эффективной стратификации пациентов по группам риска, определяющим стратегию и тактику лечения. На сегодняшний день в рамках протокола «Москва-Берлин 2008» детей с ОЛЛ стратифицируют по группам риска в основном на основе сле-

дующих критериев: возраст, размер селезёнки, наличие хромосомных перестроек, инициальный лейкоцитоз, поражение центральной нервной системы. В западных протоколах кроме этого используют количественное определение бластных клеток (оценка минимальной остаточной болезни, MRD) в контрольных точках терапии. Ключевым событием при созревании лимфоцитов из юных форм является процесс V(D)J — рекомбинации, результатом которой является формирование разнообразных антиген-распознающих рецепторов. В классическом представлении В- и Т-клеточные рецепторы понимаются как специфичные маркёры В- и Т- лимфоцитов. Вместе с тем, в современных работах показано, что рекомбинации тяжёлых цепей иммуноглобулинов были выявлены в 22% случаев Т-лимфобластных лейкозов, а рекомбинации зародышевых сегментов Т — клеточного рецептора детектированы более чем в 93% случаев В-лимфолейкозов. Наблюдаемый феномен получил название «кросс-линейных перестроений». По данным ряда авторов кросс-линейные перестроения ассоциированы с иммунофенотипом более ранних предшественников по сравнению с бластами, в которых подобных перестроений не детектировано. Нами в рамках реализации протокола «Москва-Берлин 2008» проанализировано 200 пациентов с ОЛЛ в возрасте от 0 до 17 лет, из которых для 48 детей выявлены клональные и кросс-линейные перестроения, проанализирован уровень МОБ.

### Универсальный аудиологический скрининг новорождённых в России, значение генетических анализов

**Чибисова С.С.<sup>1,3</sup>, Маркова Т.Г.<sup>1,3</sup>, Цыганкова Е.Р.<sup>1,3</sup>, Близначев Е.А.<sup>2</sup>, Поляков А.В.<sup>2</sup>, Таварткиладзе Г.А.<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup> ФГБУН «Российский научно-практический центр аудиологии и слухопротезирования ФМБА России», Москва 117513, Ленинский пр., 123, [svetas@yandex.ru](mailto:svetas@yandex.ru)

<sup>2</sup> ФГБУ «Медико-генетический научный центр», Москва

<sup>3</sup> ГБОУ ДПО Российская медицинская академия последипломного образования МЗ РФ

Распространённость тяжёлых форм врождённой тугоухости составляет 1 на 1000 новорождённых, что на порядок выше частоты других врождённых патологий, подлежащих скринингу у новорождённых. Раннее выявление и ранняя реабилитация детей предоставляет им возможность не отстать в психоречевом развитии от нормально слышащих сверстников.

С 1996 года в Российской Федерации внедрены программы скрининга на врождённые нарушения слуха на основе факторов риска с последующим проведением поведенческих тестов и обследовании в сурдоцентрах. Современные возможности диагностики позволили в 2008 году начать реализацию программы универсального аудиологического скрининга новорождённых на основе регистрации отоакустической эмиссии (ОАЭ). На 1-м этапе всем новорождённым на 3—4 день жизни в роддоме проводится регистрация ОАЭ. На 4—6 нед. жизни в поликлинике обследуют детей, не прошедших скрининг в роддоме, детей, не охваченных скринингом ранее, и детей с факторами риска по тугоухости. 2-й этап скрининга включает полное аудиологическое обследование выявленных детей в сурдоцентре в 4—6 мес. Задачи второго этапа сегодня в стране выполняют 209 сурдологических центров.

Приводим результаты аудиологического скрининга за 2013 г. В России в 83 регионах в 2013 г. родились 1,88 млн детей, на 1-м этапе обследовано 1,82 млн новорождённых (96,7%), не прошли скрининг 53 223 ребёнка (2,92%). 2-й этап скрининга проведён 40 тыс. детей (75,16%), у 5659 детей подтверждена врождённая двусторонняя тугоухость разной степени тяжести. Врождённая глухота диагностирована у 0,6 из 1000 новорождённых.

С 2011 по 2013 гг. нами проводился генетический скрининг среди младенцев с тугоухостью, выявленных в результате аудиологического скрининга новорождённых. Результаты нашей работы показали, что основной причиной врождённой сенсоневральной тугоухости являются мутации в гене *GJB2*. Генетический анализ при раннем выявлении является подтверждением факта заболевания, позволяет родителям раньше преодолеть стресс и активно приступать непосредственно к реабилитации ребёнка, поэтому считаем генетический анализ важным звеном реабилитации. Рассматривается вопрос о целесообразности внедрения сочетанного аудиологического и генетического скрининга.

### Изучение вовлечённости генетических вариантов цитокинов в формирование гиперпластических процессов матки

**Чурносов М.И., Алтухова О.Б., Сиротина С.С., Пахомов С.П.**

ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», кафедра медико-биологических дисциплин

308015, г. Белгород, ул. Победы 85, [churnosov@bsu.edu.ru](mailto:churnosov@bsu.edu.ru)

Гиперпластические процессы матки (миома матки, генитальный эндометриоз, гиперпластические процессы эндометрия) занимают ведущее место в структуре гинекологической заболеваемости. На данный момент исследователи отмечают увеличение частоты сочетанного развития гиперпластических процессов эндо- и миометрия, составляющее по некоторым данным от 63% до 73%.

Целью исследования было изучение вовлечённости генетических вариантов цитокинов в формирование гиперпластических процессов матки. Материалом для исследования послужили данные генотипирования 1235 индивидуумов (из них 735 больных гиперпластическими процессами матки и 500 чел. контрольной группы) по 12 полиморфным локусам интерлейкинов и хемокинов: -174 G/C *IL-6* (rs 1800795), -511 C/T *IL-1B* (rs 16944), -889 C/T *IL-1A* (rs 1800587), -584 C/T *IL-4* (rs 2243350), -592 C/A *IL-10* (rs 180082), -703 C/T *IL-5* (rs 2069812), фактора стромальных клеток -801G/A *SDF1* (rs 210753), -403G/A *RANTES* (rs 210753), A/G I-TAC (rs 4512021), -1 C/G *MCP-1* (rs 2857657), -1β +1931 A/T *MIP1β* (rs 1719153 -251 A/T *SCYB8* (rs 4073). Проведён биоинформатический анализ с помощью программного обеспечения APSampler [<http://sources.redhat.com/cygwin/>].

Выявлены ассоциации полиморфных генетических маркёров цитокинов с формированием гиперпластических процессов матки (миомы матки, эндометриоза, гиперпластических процессов эндометрия). Установлены связи генетических вариантов интерлейкинов и хемокинов с патогенетическими значимыми признаками гиперпластических процессов матки. Промонстрированы особенности «генетической конституции» больных с разными изолированными гиперпластическими процессами матки и их сочетаниями. Показан вклад сочетаний генов цитокинов в генетическую предрасположенность к различным пролиферативным процессам матки (миома матки, гиперпластические процессы эндометрия и эндометриоз).

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГАОУ ВПО «НИУ БелГУ» на 2015 г. (тема проекта: Изучение генетических факторов риска развития мультифакториальных заболеваний человека).

## Генофонд популяций индоевропейской лингвистической семьи: полногеномный анализ на основе использования биобанков

Чухряева М.И.<sup>1,2</sup>, Лукьянова Е.<sup>1</sup>, Quintano-Murci L.<sup>3</sup>, Балаховский О.П.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, 119991, Москва, ул. Губкина, 3  
m.chukhryaeva@yandex.ru

<sup>2</sup> ФГБУ «МГНЦ» РАМН, 115478, Москва, ул.Москворечье, 1

<sup>3</sup> Institute Pasteur, F-75015, France, Paris

На языках индоевропейской лингвистической семьи говорит большая часть современного населения мира, а её ареал охватывает наибольшую часть ойкумены. Однако вопросы прародины и путей расселения индоевропейцев вызывают самые горячие дискуссии, в которых широко используются генетические аргументы. Для адекватных генетических исследований необходимы как создание обширных биобанков (содержащих корректно собранные географические данные), так и разработка технологий их объективного анализа. Данная работа опирается на собственный обширный биобанк, что позволило апробировать технологию сравнения генофондов популяций, принадлежащих к индоевропейской семье, с их географическими соседями, говорящими на языках иных семей. Анализ проведён по широкогеномной панели из 140 000 специально отобранных «исторически значимых» SNP маркёров, охватывающих все три системы: аутосомные маркёры, Y хромосомы (наследование по отцовской линии) и митохондриальной ДНК (наследование по материнской линии).

Цель работы — обработка технологии и попытка выявления следов общего генетического компонента в генофонде популяций, принадлежащих к индоевропейской языковой семье (ИЕ). По панели GenoChip генотипировано 7 групп сравнения (суммарно 300 образцов): русские (ИЕ) — мордва и карелы (не ИЕ); украинцы (ИЕ) — ногайцы и крымские татары (не ИЕ); армяне (ИЕ) — грузины (не ИЕ); осетины (ИЕ) — кабардинцы (не ИЕ); таджики и памирские народы (ИЕ) — туркмены и узбеки (не ИЕ); литовцы (ИЕ) — эстонцы (не ИЕ); французы и испанцы (ИЕ) — баски (не ИЕ).

В докладе детально анализируется степень сходства популяций в пределах каждого анализируемого комплекса. Их анализ позволяет сделать предварительный вывод, что генетическое родство изученных популяций определяется не только их географической близостью, но и культурными особенностями, включая лингвистическую принадлежность.

Работа поддержана грантом РФФИ (13-04-01711) и The Genographic 2.0 project.

## Многолетняя динамика цитогенетических нарушений в лимфоцитах крови жителей Северной Осетии

Чишева Ф.Т.

ГБОУ ВПО СОГМА Минздрава России, г. Владикавказ, ул. Пушкинская, 40  
fa-2009@yandex.ru

Выявление причинной связи индуцированных мутаций с возникновением злокачественных новообразований, врождённых пороков развития, наследственных и многих других заболеваний обосновали необходимость геноксикологического мониторинга. Одним из промышленных городов России, где антропогенные изменения биосферы носят угрожающий характер, является столица Северной Осетии — г.Владикавказ, в центре которого расположены предприятия цветной металлургии.

Анализ цитогенетического обследования взрослого и детского населения Северной Осетии свидетельствует о наличии значительных межгрупповых различий. Так обследование взрослого населения республики показало, что минимальные значения средних частот аберрантных метафаз в группе из отдалённых от Владикавказа сёл составили  $1,4 \pm 0,52$ , максимальные — в Промышленном округе г.Владикавказа —  $3,87 \pm 0,22$  ( $p < 0,001$ ). Результаты цитогенетического обследования взрослых и детей, проживающих в Северной Осетии, показали статистически значимые отличия клеток с хромосомными аберрациями у лиц, проживающих вблизи от металлургических предприятий ( $p < 0,001$ ). Во всех исследованных группах в спектре хромосомных нарушений преобладали одиночные фрагменты, однако наблюдалась тенденция к увеличению доли аберраций хромосомного типа.

Анализ динамики цитогенетических нарушений за 10-летний период наблюдений свидетельствует об интенсификации мутагенных воздействий, особенно после аварийных выбросов на одном из металлургических предприятий г.Владикавказа в 2009 г. Это проявилось в росте частот хромосомных аберраций, числа клеток содержащих более 1 аберрацию, увеличении доли парных фрагментов и хромосомных обменов в крови исследованных взрослых и детей.

## Транскриптомное профилирование на ранних стадиях болезни Паркинсона

Шадрина М.И.<sup>1</sup>, Алиева А.Х.<sup>1</sup>, Филатова Е.В.<sup>1</sup>, Колачева А.А.<sup>2</sup>, Карабанов А.В.<sup>3</sup>, Иллариошкин С.Н.<sup>3</sup>, Угрюмов М.В.<sup>2</sup>, Сломинский П.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН Институт молекулярной генетики Российской академии наук

23182, Москва, пл. академика И.В. Курчатова, д. 2

e-mail: shadrina@img.ras.ru

<sup>2</sup> ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К.Кольцова Российской академии наук

119334, Москва, ул. Вавилова, д. 26

<sup>3</sup> ФГБНУ Научный центр неврологии

Москва, 125367, Волоколамское ш., д. 80

Для выяснения молекулярно-генетических закономерностей, связанных с инициацией и развитием патологического процесса при БП, проведён полнотранскриптомный анализ на ранних стадиях данного заболевания. Были изучены ткани мозга мышей с МФТП-индуцированными моделями досимптомной и ранней симптомной стадиями БП и лимфоциты периферической крови больных, находящихся на ранних стадиях заболевания (1—2 по шкале Хен и Яра) и не подвергавшихся лечению.

В результате выявлен ряд кластеров генов, связанных с различными метаболическими процессами. Для трёх из них — функционирования митохондрий, убиквитин-зависимого протеолиза и иммунной системы — уже давно получены многочисленные доказательства их роли в патогенезе БП. Были также получены данные, подтверждающие недавно появившиеся сведения о важной роли везикулярного транспорта в развитии БП. Кроме того, был выявлен кластер генов активно, подвергающихся альтернативному сплайсингу. В этот кластер главным образом вошли гены, так или иначе вовлечённые в функционирование клеточного транспорта.

Был также проведён анализ изменения экспрессии отдельных генов, отобранных при проведении полнотранскриптомного анализа, в тканях мозга и в периферической крови мышей с МФТП-индуцированными моделями. Результаты проведённого анализа позволяют предполагать, что на досимптомных стадиях БП в телах дофаминергических (ДА) нейронов наблюдается развитие компенсаторных механизмов. В то же время, сравнительный анализ профилей экспрессии генов в черной субстанции и периферической крови выявил сход-



ные изменения в уровнях мРНК данных генов у мышей с МФТП-индуцированными моделями БП. Эти данные позволяют предположить, что в дальнейшем лимфоциты периферической крови могут быть использованы в диагностике ранних стадий БП, а уровни мРНК генов в периферической крови могут рассматриваться в качестве биомаркёров нейродегенерации при БП.

### Оценка вероятности развития рецидива острого миелоидного лейкоза в посттрансплантационном периоде у пациентов с использованием панели экспрессионных маркёров

*Шакирова А.И.<sup>1</sup>, Бархатов И.М.<sup>1</sup>, Шакирова О.И.<sup>2</sup>, Тепляшина В.В.<sup>1</sup>, Бондаренко С.Н.<sup>1</sup>, Зубаровская Л.С.<sup>1</sup>, Афанасьев Б.В.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Министерства Здравоохранения РФ, С-Петербург, ул. Л. Толстого, 6/8  
llil.Yur@yandex.ru

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет

Известно, что до 50 процентов случаев острого миелоидного лейкоза не имеют информативных генетических маркёров. Таким образом, достаточно актуальной является задача поиска универсальных маркёров, позволяющих проводить адекватную терапию в посттрансплантационном периоде.

В исследование было включено 63 пациента в возрасте от 1 до 60 лет с острым миелоидным лейкозом, которым была выполнена аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток. Оценка уровня экспрессии генов *WT1*, *BAALC*, *EVII*, *PRAME*, а также уровня химерных транскриптов проводилась методом RQ-PCR с нормализацией на экспрессию гена *ABL*.

По данным экспрессии генов у здоровых доноров мы рассматривали в качестве порогового уровень экспрессии (эксп. ген/*ABL* x100) значения для *WT1* — 250, для *EVII* — 10, для *BAALC* — 20, для *PRAME* — 200. У пациентов, которым была выполнена трансплантация в рецидиве, мы отметили наличие гиперэкспрессии генов *EVII* ( $p = 0,006$ ), *WT1* ( $p < 0,001$ ), *BAALC* ( $p < 0,001$ ). Сходная тенденция наблюдалась и в отношении гена *PRAME* ( $p = 0,08$ ). При этом наличие гиперэкспрессии гена *EVII* наблюдалось у 6 пациентов (33%), *WT1* — у 13 пациентов (72%), *BAALC* — у 10 пациентов (55%) и *PRAME* — у 4 пациентов (22%). При сопоставлении данных экспрессии генов и уровня химерных транскриптов *PML-RARa* и *RUNX1-RUNX1T1* была выявлена корреляционная зависимость ( $p < 0,05$ ). В то же время, мы не обнаружили данной зависимости при сопоставлении с данными экспрессии химерного гена *CBFB-MYH11*. При анализе специфичности исследования было выявлено, что при наличии химерного транскрипта менее чем в 2% клеток, позитивные ранее значения экспрессионных маркёров приобретают значения, сопоставимые с уровнем базальной экспрессии.

Оценка экспрессии генов *WT1*, *BAALC*, *EVII*, *PRAME* у пациентов с ОМЛ является перспективным подходом в оценке вероятности развития рецидива после алло-ТКМ. Вместе с тем, оценка минимальной остаточной болезни с использованием экспрессионных маркёров представляется проблематичной в силу наличия их базальной экспрессии в неопухольевых клетках.

### Оптимизация дифференциальной диагностики и интерпретации результатов генетического тестиро-

### вания экспертной системой xGenCloud при некоторых формах эпилепсий

*Шарков А.А., Головтеев А.Л., Шаркова И.В., Угаров И.В.*

ООО «эксДжен Сайбернетикс», Москва  
e-mail: a.a.sharkov@yandex.ru

Медицинская аудитория испытывает острый недостаток в развитии средств и методов клинической медицины, облегчающих постановку диагноза. Преобладающее большинство врачей-специалистов, в том числе и эпилептологов, не обладает должной информацией о генетике как моногенных, так и мультифакторных заболеваний. Стремительный темп развития генетики в целом, огромный массив данных по межгеному взаимодействию и клинико-генетической гетерогенности требуют от врачей, и, в первую очередь, от врачей-генетиков, постоянно обновлять и совершенствовать свои знания.

Эти задачи призвана решить биоинформатика с применением методов математического моделирования. Реализуемые в рамках экспертной системы xGenCloud алгоритмы дифференциальной диагностики и интерпретации результатов генетического тестирования в полной мере отражают запросы медицинского сообщества: такая система не только позволяет автоматически интерпретировать результаты генетических тестов, но и помогает врачам-специалистам облегчить поиск причин, приведших к развитию судорог.

Цель исследования: разработать эвристический алгоритм для подбора генов под искомый фенотип для сужения области дифференциально-диагностического поиска и интерпретации результатов последующего генетического тестирования при судорожных состояниях экспертной системой xGenCloud.

Для наполнения базы знаний по генетически детерминированным заболеваниям использовались специализированные в данной области публичные ресурсы сети Интернет.

Разработанный алгоритм позволяет сузить область дифференциально-диагностического поиска при судорожных состояниях, автоматически интерпретировать результаты генетических анализов, содержит информацию более чем о 100 генах, даёт возможность ускорить процесс развития услуг персонализированной медицины в эпилептологии. Структура заключения включает два варианта: упрощённый и расширенный, включая научный отчёт с информацией об ассоциациях, выявленных у пациента. Система, несомненно, требует дальнейшего совершенствования при непосредственном участии врачей-генетиков и врачей-эпилептологов.

### Современная классификация, генетическая гетерогенность и дифференциальная диагностика прогрессирующих мышечных дистрофий

*Шаркова И.В., Дадали Е.Л.*

ФГБНУ МГНЦ, Москва, ул. Москворечье, д. 1  
sharkova-inna@rambler.ru

Прогрессирующие мышечные дистрофии (ПМД) — группа наследственных клинически полиморфных и генетически гетерогенных заболеваний, характеризующихся нарастающими явлениями вялого пареза, первично-мышечным характером изменений при проведении электронейромиограммы и повышением уровня активности креатинфосфокиназы в плазме крови. К настоящему времени описано более 40 генетических вариантов ПМД с различными типами наследования и их поиск продолжается. Наличие выраженной генетической гетерогенности при сходстве клинических проявлений большинства ПМД существенно затрудняет диагностику отдельных генетических вариантов. В настоящее время чаще всего используется система ПМД, в основу которой положено несколько критериев. В зависимости от возраста начала выделяют врождённые

(ВМД) и манифестирующие после периода нормального моторного развития ПМД. Последние, в свою очередь, классифицируют зависимости от топографии преимущественного мышечного поражения. В соответствии с этим принято выделять пояснично-конечностные (ПКМД), лице-плече-лопаточные и лопаточно-перонеальные, окулофарингеальные и дистальные ПМД. Однако наиболее значимой является классификация ПМД, основанная на различиях этиопатогенетических механизмов. Наиболее распространённой группой ПМД является ПКМД. Определено 33 белковых продукта для идентифицированных 34 генов, ответственных за возникновение этой группы заболеваний ПМД. В данной классификации ПКМД имеют цифровое (в зависимости от типа наследования) и буквенное (в зависимости от порядка идентификации гена) обозначение. Было показано, что в отличие от ВМД, ПКМД имеют значительную степень перекрытия клинических признаков. В связи с этим возникла необходимость создания алгоритмов, в основу которых были положены частоты встречаемости того или иного генетического варианта ПКМД и наличие мажорных мутаций в генах, ответственных за их возникновение. Так, у больных с клиническими проявлениями ПКМД поиск генетического варианта целесообразно начинать с анализа двух мажорных мутаций в гене *CAPN3*. При их отсутствии целесообразно проводить анализ экзона по панели «Мышечные дистрофии».

### Влияние полиморфизма *CYP4F2* на профиль безопасности и особенности режима дозирования фениндиона у пациентов с клапанной фибрилляцией предсердий

*Шахиджанова В.С., Сычев Д.А., Казаков Р.Е., Грищенко Н.Д., Паламарчук Ю.Ю., Коссовская А.В., Третьяков А.Ю.*

Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, 119048, ул. Труubeцкая д.8 стр.2, 2466107@mail.ru

ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России, Москва, 125993, ул. Баррикадная д.2

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, медицинский факультет, г.Белгород, 308000, ул. Победы, д. 85, корп. 10

ФГБУ НЦ ЭСМП МЗ РФ, Москва, 127051, Петровский бульвар, д. 8

Из-за запрета FDA применять «новые» оральные антикоагулянты из групп ингибиторов IIa и Xa, антагонисты витамина K являются безальтернативными препаратами для пациентов с клапанной ФП. Однако варфарин в ряде случаев не может быть назначен, и тогда используются производные индандиола. Хорошо известна роль генетических факторов в индивидуальной чувствительности к кумариновым антикоагулянтам (полиморфизмы генов *CYP2C9*, *VKORC1*, *CYP4F2* и др.), для которых разработаны и валидизированы алгоритмы персонализации режима дозирования. Однако влияние полиморфизма гена *CYP4F2* на профиль эффективности, безопасности, особенно же режима дозирования фениндиона ранее не изучалось, что и стало целью исследования.

В исследование включено 42 пациента (20 мужчин, 22 женщины), в возрасте 27–80 лет, с клапанной ФП, которым было возможно применение кумариновых антикоагулянтов. Все пациенты получали фениндион (Фенилин, «Здоровье», Украина) в дозе от 30 до 130 мг/сутки под контролем международного нормализованного отношения (МНО), целевые значения МНО — 2–3. Генотипирование по полиморфному маркеру V433M гена *CYP4F2* проводилось методом ПЦР-ПДРФ (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) после предварительного выделения ДНК из лейкоцитов крови. Статистическую обработку проводили с помощью точного критерия Фишера.

Генотип СС выявлен у 26 пациентов (62%), генотип СТ — у 16 пациентов (38%), генотип ТТ не был выявлен. Из 26 пациен-

тов с генотипом СС высокая доза фениндиона (более 90 мг/сутки) для достижения целевых значений МНО потребовалась только у 2 пациентов (8%), а среди 16 пациентов с генотипом СТ — у 6 пациентов (37,5%), различия оказались статистически значимыми ( $p = 0,04$ ). Из 26 пациентов с генотипом СС кровотечения развились у 4 (9%), а среди 16 пациентов с генотипом СТ — у одного (7%),  $p = 0,63$ . Из 26 пациентов с генотипом СС МНО повышалось более 3 у 2 пациентов (8%), а среди 16 пациентов с генотипом СТ — ни у одного пациента (0%),  $p = 0,5$ .

Пациентам с генотипом СТ по полиморфному маркеру V433M гена *CYP4F2* чаще необходима высокая доза фениндиона (более 90 мг/сутки) для достижения целевых значений МНО, что может быть связано с более интенсивным метаболизмом витамина K в печени у этой категории пациентов.

### Роль полиморфизма генов металлопротеаз в патогенезе наружного генитального эндометриоза

*Швед Н.Ю., Молотков А.С., Иващенко Т.Э., Ярмолинская М.И., Баранов В.С.*

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта» Санкт-Петербург, 199034, natashved@mail.ru

Генная сеть наружного генитального эндометриоза (НГЭ) сложна и включает различные, функционально тесно взаимосвязанные гены метаболизма (детоксикации), межклеточных взаимодействий, проонкогены, гены, ответственные за эндокринные функции и иммунный статус. Важную роль в патогенезе НГЭ могут играть матриксные металлопротеазы (Matrix Metalloproteinase — MMP) — семейство внеклеточных, цинк-содержащих протеаз, которые обладают способностью специфически гидролизовать основные белки внеклеточного матрикса, и играют активную роль в регуляции выработки биологически активных молекул, таких, как цитокины, факторы роста и др., стимулирующие процессы неопластического роста. Нами проведён анализ полиморфизма генов семейства матриксных металлопротеаз: (*MMP3* (rs3025058), *MMP7* (rs11568818), *MMP9* (rs17576, rs2250889), *MMP12* (rs2276109), *MMP13* (rs2252070)) у больных НГЭ и у здоровых женщин. Показано, что у больных в 6 раз выше частота гомозиготного генотипа по редкому аллелю 5A, ассоциированного с повышенной экспрессией гена *MMP3*, чем у здоровых женщин ( $p = 0,046$ ). Гетерозиготный генотип A/G в гене *MMP9* (rs17576) в группе больных НГЭ встречается в 2 раза чаще, чем в группе здоровых женщин. Наличие сочетанного генотипа *MMP3* rs3025058 (5A/6A) и *MMP7* rs11568818 (A/A) x *MMP9* rs17576(A/G) повышает риск развития эндометриоза в 7 раз ( $p = 0,04$  OR = 6,6 CI95%: 1,00–53,65). С использованием метода Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) нами проанализировали различные комбинации полиморфных вариантов 5 генов MMP у больных с НГЭ и в контрольной группе. Созданы значимые 3- и 4-локусные модели, отражающие взаимодействия генов MMP в развитии данного заболевания. Выявленные различия между группой больных НГЭ и контролем для генов *MMP3* и *MMP9* указывают на участие белков семейства MMP в патогенезе НГЭ. Отдельные аллельные варианты этих металлопротеаз или их неблагоприятные сочетания, ассоциированные, по всей вероятности, с повышенной активностью данных ферментов, могут способствовать разрушению белков базального слоя эпителиальной ткани брюшины и подлежащей соединительной ткани, и создавать условия для инвазии эндометриозидных гетеротопий, что может являться причиной прогрессирования заболевания и её тяжести.

### Исследование ассоциации полиморфизма I462V гена *CYP11A1* с развитием врождённого дефекта

## межпредсердной перегородки сердца в Краснодарском крае

Швецов Я.Д.<sup>1</sup>, Лазарев К.Ю.<sup>2</sup>, Брайко О.П.<sup>2</sup>,  
Голубцов В.И.<sup>2</sup>, Полоников А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Курский государственный медицинский университет, Курск, Россия

305041, Курская область, г.Курск, ул. Карла Маркса, д. 3  
E-mail: shvecov.miogu@rambler.ru

<sup>2</sup>Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия

350063, Краснодарский край, г.Краснодар, ул.Седина, 4

Изолированный врождённый дефект межпредсердной перегородки сердца (ДМПП), как правило, представляет собой мультифакториальное заболевание, развивающееся в результате комплексного взаимодействия генетических и средовых факторов. В рамках настоящего исследования была изучена ассоциация частого полиморфизма I462V гена *CYP11A1* с риском развития ДМПП у детей Краснодарского края. Материалом для исследования послужили образцы ДНК 267 неродственных детей славянского происхождения (преимущественно русской национальности) из 44 административных образований Краснодарского края, родившихся в период 1998—2012 гг. Исследуемые группы включали: 48 больных с ДМПП и 219 здоровых детей без ВПР. Диагноз ВПР устанавливали по результатам комплексного обследования, включающего клинические и лабораторно-инструментальные методы (ЭКГ, УЗИ, рентгенографии сердца и др.). Генотипирование полиморфизма I462V гена *CYP11A1* проводилось путём полимеразной цепной реакции в режиме реального времени и дискриминации аллелей с помощью TaqMan-зондов. Статистическая обработка данных проводилась на персональном компьютере с использованием программных пакетов Statistica 6.0 («Statsoft») и Excel 2010 («Microsoft»). Частоты генотипов *CYP11A1* находились в равновесии Харди—Вайнберга ( $p > 0,05$ ). Частоты вариантных аллелей были следующие: у больных 462I — 0,979, 462V — 0,021, у здоровых 462I — 0,968, 462V — 0,032. Частоты генотипов 462II, 462IV и 462VV *CYP11A1* были следующие: 95,8%, 4,2% и 0% в группе больных ДМПП и 94,1%, 5,5% и 0,4% — в группе здоровых, соответственно. Статистически значимых различий в частотах аллелей и генотипов полиморфизма I462V гена *CYP11A1* между группами больных ДМПП и здоровых не установлено, в том числе и при стратифицированном анализе с учётом пола.

## Возможности молекулярно-генетического скрининга как инструмента профилактики наследственных заболеваний при планировании беременности

Шевченко К.Г., Ковалева Я.В., Кондукторов К.А.,  
Коновалов Ф.А., Литвинова М.М., Померанцева Е.А.,  
Исаев А.А.

ООО «ЦГРМ ИСКЧ», 119333, Москва, ул. Губкина, 3, стр. 1  
kshvechenko@hsci.ru

Комплексная диагностика и лечение наследственных заболеваний является одной из наиболее активно развивающихся областей медицины. В первую очередь это связано с тем, что большинство наследственных патологий являются тяжёлыми хроническими заболеваниями, многие из них сопровождаются жизнеугрожающими проявлениями. Своевременное выявление генетических рисков при планировании и ведении беременности даёт возможность паре их минимизировать путём преимплантационной (ПГД) либо пренатальной диагностики.

В рамках проекта Genetico, стартовавшего в 2013 году, нами был реализован комплексный подход к профилактике и

диагностике широкого спектра наследственных заболеваний в различных группах населения путём объединения молекулярно-генетического скрининга наследственных заболеваний, ПГД, а также неинвазивной пренатальной диагностики хромосомных аномалий плода. О целесообразности такого подхода свидетельствуют результаты молекулярно-генетического скрининга 264 наиболее частых мутаций, распространённых на территории Российской Федерации, методом ДНК-микроматричного анализа. В результате генотипирования 336 пациентов было показано, что частота моногенных заболеваний составила 8,6% (таблица). Доля обследуемых, у которых была выявлена хотя бы одна из 264 мутаций составила 70%. Данные результаты свидетельствуют о высокой клинической и социально-экономической значимости проведения широкомасштабного скрининга на моногенные патологии при планировании и ведении беременности.

## Частота моногенных заболеваний, выявленных в рамках скрининга

N = 336 Заболевание	Ген	Мутация	Генотип	Слу- чаев	Частота, %
Ихтиоз	FLG	c.1501C>T (Arg501ter)	C/T (Arg/ter)	3	4,5%
		c.2282del4	N/Del	11	
		Компунд-гетерозиготное носительство c.1501C>T (Arg501ter) и c.2282del4	Arg/ter; N/Del	1	
Гемохроматоз, тип 1	HFE	c.187C>G (His63Asp)	G/G (Asp/Asp)	6	3%
		Компунд-гетерозиготное носительство His63Asp и Cys282Tyr	His/Asp; Cys/Tyr	4	
Атрофия зрительного нерва Лебера	MTND4	m.11778G>A (Arg340His)	G (Arg)	1	0,6%
	MTND6	m.14459G>A (Ala72Val)	G (Ala)	1	
ПКМД, 2А	CAPN3	c.550delA (Thr184fs)	Del/Del (fs/fs)	1	0,3%
Периодическая болезнь	MEFV	c.442G>C (Glu148Gln)	C/C (Gln/Gln)	1	0,3%
Дефицит альфа-1-анти-трипсина	SERPINA1	c.1096G>A (Glu342Lys)	A/A (Glu/Glu)	1	0,3%
Миотония Беккера	CLCN1	c.568GG>TC (Gly190Ser)	GG/TC (Gly/Ser)	1	0,3%
Всего пациентов				29	8,6%

## Спектр мутаций в генах *PKP2* и *DSG2* у больных с аритмогенной кардиомиопатией правого желудочка

Шестак А.Г.<sup>1</sup>, Благова О.В.<sup>2</sup>, Яковлева М.В.<sup>1</sup>,  
Фролова Ю.В.<sup>1</sup>, Дземешкевич С.Л.<sup>1</sup>, Заклязьминская Е.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского, Москва  
anna.shestak87@gmail.com

<sup>2</sup> Клиника факультетской терапии им. В.Н. Виноградова  
I МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва

Аритмогенная кардиомиопатия правого желудочка (АКПЖ) — наследственное заболевание, характеризующееся фиброзно-жировым замещением миокарда правого желудочка, специфическим паттерном ЭКГ, жизнеугрожающими желудочковыми нарушениями ритма. Диагноз АКПЖ устанавливается на основе критериев, предложенных Marcus et al. в 2010 г.



В 25—40% случаев АКПЖ обусловлена мутациями в гене плакофилина *PKP2*, в 12—40% случаев — мутациями в гене десмоглеина *DSG2*. Скрининг мутаций в генах *PKP2* и *DSG2* рекомендован экспертной группой HRS/EHRA.

Клиническое и генетическое обследование было проведено 32 пациентам из 30 неродственных семей. Средний возраст манифестации у пробандов составил 41 год. Клиническое обследование включало ЭКГ, 24-часовое ХМ, ЭхоКГ, МРТ сердца, биопсию миокарда. Генетическое обследование включало прямое секвенирование кодирующей последовательности и прилегающих областей генов *PKP2* и *DSG2*. По запросу семьи была выполнена ДНК-диагностика родственникам пробанда с выявленной мутацией.

В гене *PKP2* у четырёх пациентов из трёх неродственных семей были выявлены мутации: p.W538\*, c.1523\_1538del, p.S140F. Манифестация заболевания пришлась на 4—5-ю декаду жизни. У пациентов отмечались синкопальные состояния, правожелудочковая экстрасистолия, устойчивая желудочковая тахикардия. ИКД имплантирован или рекомендован.

В гене *DSG2* у четырёх пробандов из четырёх неродственных семей были выявлены миссенс-мутации p.S194L, p.V533I, p.N245H и p.R49H, и вариант с неясным клиническим значением p.V158G. Манифестация заболевания пришлась на 3-ю декаду жизни. У данных пациентов отмечались устойчивая желудочковая тахикардия, гипертрофия ПЖ, выраженный фиброз и липоматоз. ИКД имплантирован или рекомендован.

У пациента 26 лет выявлена мутация p.S194L в гомозиготном состоянии в гене *DSG2*, что может служить результатом общего происхождения аллелей или делецией второго аллеля.

Диагноз АКПЖ для носителей мутаций методами ДНК-диагностики подтвержден. Частота выявления мутаций в выборке российских больных составила 23, 3%, что ниже суммарной частоты выявления мутаций в европейских выборках больных с АКПЖ.

## Экспрессия микроРНК при немелкоклеточном раке лёгкого

*Шикеева А.А.<sup>1,2</sup>, Кекеева Т.В.<sup>1,2</sup>, Завалишина Л.Э.<sup>1</sup>, Андреева Ю.Ю.<sup>1</sup>, Залетаев Д.В.<sup>2,3</sup>, Франк Г.А.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздрава России

<sup>2</sup>ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Москва, Россия, e-mail: shikeeva@mail.ru

<sup>3</sup> ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

Рак лёгкого — одно из самых распространённых злокачественных новообразований в мире. Группа немелкоклеточного рака лёгкого (НМРЛ) составляет примерно 85% всех раков лёгкого. МикроРНК играют важную роль в регуляции трансляции и деградации мРНК.

Целью исследования было изучение экспрессии зрелых микроРНК let-7a, miR-155, miR-205 в НМРЛ и смежных с опухолью условно нормальных тканях на 2 и 5 см. Исследование проводилось на 57 образцах операционного материала (парафиновые блоки) от 19 пациентов с НМРЛ. Анализ экспрессии микроРНК проводили с помощью ПЦР в режиме реального времени с количественной оценкой методом 2<sup>-ΔΔCt</sup>. В качестве калибратора использовали образцы морфологически нормальной ткани от пациентов с неспецифическими хроническими заболеваниями лёгких, в качестве эндогенного контроля — экспрессию малой ядерной РНК RNU6. Статистическую обработку данных проводили с помощью одноконцевого парного и непарного тестов Стьюдента.

Уровень экспрессии let-7a значительно снижен в опухоли по сравнению с смежной тканью на расстоянии 2 см (p = 0,025) и на 5 см (p = 0,012). Достоверных изменений уровня экспрессии miR-155, miR-205 не выявлено. При разделении пациентов по клинико-морфологическим параметрам выявлены следующие ассоциации:

в группе пациентов моложе 63 лет в опухоли экспрессия микроРНК let-7a и miR-155 значительно снижена (p = 0,015; p = 0,048) по сравнению со смежной тканью; у пациентов с III—IV стадией заболевания выявлено снижение уровня экспрессии let-7a и miR-155 (p = 0,03; p = 0,023) в опухолевой ткани по сравнению со смежной тканью; уровень экспрессии let-7a в низкодифференцированных опухолях снижен (p = 0,013) относительно такового в смежной ткани. У относительно молодых пациентов онкологические заболевания обычно протекают более агрессивно, чем у пациентов старше. Это явление может объяснить тот факт, что в нашем исследовании снижение экспрессии в опухоли let-7a и miR155, выполняющих супрессорные функции, ассоциировано с молодым возрастом, поздней стадией заболевания и низкой степенью дифференцировки. Результаты нашего исследования показывают обратную корреляцию между уровнем экспрессии двух микроРНК (let-7a, miR-155) и злокачественностью опухолевого процесса. Этот факт позволяет предположить использование микроРНК let-7a и miR-155 в качестве прогностических маркёров неблагоприятного прогноза.

## Структура геномного дисбаланса у пациентов с аномалиями фенотипа и нормальным кариотипом при стандартном цитогенетическом исследовании

*Шилова Н.В., Капиев И.В., Миньженкова М.Е., Козлова Ю.О., Маркова Ж.Г.*

ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН, г. Москва, ул. Москворечье, д.1  
nvsh05@mail.ru

GTG-метод дифференциального окрашивания хромосом является «золотым стандартом» в клинической цитогенетике. Тем не менее, ограниченная разрешающая способность этого метода не позволяет диагностировать структурные перестройки хромосом размером менее 10 млн п.н. С развитием высокотехнологических методов полногеномного скрининга, таких как хромосомный микроматричный анализ (ХМА), появилась возможность анализировать весь геном человека, выявлять геномный дисбаланс в виде вариаций числа копий участков ДНК и определять их патогенетическую значимость. Показано, что ХМА позволяет дополнительно выявлять 15—20% случаев хромосомных микроперестроек у пациентов с аномалиями фенотипа и нормальным кариотипом, установленным при стандартном цитогенетическом исследовании. Однако результаты ХМА предоставляют информацию только о виде геномного дисбаланса (дупликация или делеция) и его локализации в геноме. Поэтому возникает насущная необходимость развития комплексных подходов в диагностике хромосомных микроперестроек, позволяющих не только точно определять количество геномных копий отдельных участков ДНК, но и определять структуру и происхождение геномного дисбаланса.

ХМА был проведён у 12 пациентов с умственной отсталостью, врождёнными аномалиями и/или пороками развития, лицевыми дизморфиями, у которых кариотип был определен как нормальный при стандартном цитогенетическом исследовании. Во всех этих случаях методом ХМА был выявлен и локализован клинически значимый и ассоциированный с аномальным фенотипом геномный дисбаланс размером от 1,3 млн п.н. до 21,6 млн п.н. В 9 случаях геномный дисбаланс был обусловлен несбалансированными транслокациями, которые не были диагностированы при стандартном цитогенетическом исследовании. При таргетном молекулярно-цитогенетическом исследовании родителей 7 пациентов было установлено, что в 3 случаях транслокации возникли *de novo*, а в 4 случаях — вследствие различных типов мейотической патологической сегрегации у одного их родителей-носителей транслокации (во всех случаях — отцов). Определение структуры геномного дисбаланса и его происхождения позволило принципиально изменить тактику меди-

ко-генетического консультирования в этих семьях. В 2 случаях было установлено, что причиной аномального фенотипа у пациентов являлись микроделеция размером 2,4 млн п.н. и микродупликация размером 1,3 млн п.н. терминальных районов короткого и длинного плеча хромосомы 8 соответственно. В этих случаях результат ХМА был верифицирован при использовании таргетной FISH с ДНК-зондами на субтеломерные районы хромосомы 8. В 1 случае при ХМА был диагностирован геномный дисбаланс в виде одновременной микроделеции 10(q26.3) размером 3 млн п.н. и микродупликации 10(q26.13q26.3) размером 8 млн п.н., верифицированные методом FISH с ДНК-зондом на субтеломерный район 10q и mBAND10 соответственно.

Таким образом, окончательный диагноз у пациентов с аномалиями фенотипа был установлен только при комбинации различных методов исследования.

### Диагностика не описанной ранее мутации при синдроме ригидного позвоночника

**Шипилов А.А.<sup>1</sup>, Поляков А.В.<sup>2</sup>, Кадникова В.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> КГБУЗ «Диагностический центр Алтайского края», г.Барнаул  
Алтайская межрегиональная медико-генетическая консультация  
aa.shihilov66@yandex.ru

<sup>2</sup> «Центр молекулярной генетики», Москва

Синдром ригидного позвоночника (ОММ 602771) вариант врожденной непрогрессирующей миопатии, характеризующейся слабостью и гипотрофией мышц туловища и конечностей, контрактурами, деформацией позвоночника. Предположительный тип наследования аутосомно-рецессивный с варьирующей пенетрантностью.

Больная Б., 17 лет, направлена на консультацию врача-генетика ортопедом с диагнозом: Дисплазия соединительной ткани. S-образный сколиоз груднопоясничного отдела позвоночника 4 степени. Генеалогический анамнез не осложнен. Фенотипические: астеническое телосложение, гипотрофия мышц туловища и конечностей, сколиотическое нарушение осанки, деформация грудной клетки, ограничение разгибания в шейном и поясничном отделах позвоночника и крупных суставах. Рентгенология грудного отдела позвоночника: Правосторонний грудной сколиоз 4 степени. МСКТ: Грудной кифоз умеренно усилен на уровне Th7. Выраженный S-образный сколиоз груднопоясничного отдела позвоночника с ротацией позвонков. ФВД: Нарушение функции внешнего дыхания. Невролог: миопатия медленно прогрессирующая.

В «Центре Молекулярной генетики», Москва, проведено исследование образцов ДНК больной Б. с целью поиска мутаций, регистрируемых при синдроме ригидного позвоночника. В результате секвенирования всей кодирующей последовательности гена *SEPN1* включая области экзон-интронных соединений, обнаружены мутации в гетерозиготном состоянии. В экзоне 7 обнаружена не описанная ранее делеция четырех букв с.997 1000del GTGC (приводящая к сдвигу рамки считывания и появлению преждевременного стоп-кодона p.Ser 332 fs X22), в экзоне II обнаружена мутация с.1397G>A (приводящая к аминокислотной замене p.Arg466Gln). Диагноз молекулярно-генетическими методами подтвержден.

### Холецистокинин как экспрессионная мишень несфатина-1 в процессах формирования пищевого поведения

**Шипилова А.А., Тарасова А.Ю., Скобелева В.М., Климов Е.А., Ловать М.Л., Кокаева З.Г., Рудько О.И.**

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,  
биологический факультет, Москва, Россия  
alen.shipilova2011@yandex.ru

Расстройства поведения, связанного с приёмом пищи — группа синдромов в МКБ-10 с сильно различающимся содержанием: от способного самопроизвольно прекратиться переживания, до нервной анорексии (F50.0), смертность при которой достигает 18%. Пептид холецистокинин выступает регулятором многих физиологических актов, имеет отношение к эмоциям страха, а также является важным регулятором пищевого поведения, вызывая чувство сытости и контролируя аппетит. Недавно открытый N-концевой фрагмент белка NUCB2, получивший название несфатин-1, необходим для распознавания голода и насыщения. Иммуногистохимически показана локализация несфатина-1 с холецистокинином в ЦНС, что позволяет предположить их взаимодействие в регуляции пищевого поведения. Целью нашей работы был анализ транскрипционной активности препрохолецистокинина (*ССК*) в гипоталамусе и тонком кишечнике самцов и самок белых крыс на фоне курсового введения синтетических фрагментов нейрпептида несфатина-1. Работа выполнена на крысах линии Wistar весом 180–250 г. Синтетические пептиды — функциональные аналоги несфатина-1 — (*Nesf-8*, *Nesf-18*, *Nesf-27c*) вводились внутривентрикулярно в дозе 100 мкг на крысу в течение 14 дней. Нами получены данные о способности синтетических аналогов несфатина-1 при курсовом парентеральном введении оказывать продепрессивное и анорексигенное действие в поведенческих тестах, сходное с описанными в литературе эффектами самого несфатина-1. Оценку транскрипционной активности гена *ССК* проводили методом ПЦР в режиме реального времени по окончании курсового введения пептидов. У самок показано увеличение транскрипционной активности гена *ССК* при введении *Nesf18*: в тонком кишечнике (в 1,9 раза,  $p < 0,01$ ); и при введении *Nesf 27c*: в гипоталамусе (в 2,5 раза,  $p < 0,05$ ) и тонком кишечнике (в 5 раз,  $p < 0,001$ ). У самцов — при введении *Nesf8*: в гипоталамусе (в 3,7 раз,  $p < 0,005$ ) и в тонком кишечнике (в 4,9 раз,  $p < 0,05$ ). Таким образом, на фоне анорексигенных и продепрессивных эффектов пептидов нами показано увеличение транскрипционной активности гена *ССК* после курсового введения синтетических аналогов белка несфатин-1. Можно предположить, что несфатин-1 является модулятором эффектов холецистокининергической системы в регуляции пищевого поведения и его эмоциональной составляющей.

Работа поддержана грантом РФФИ №13-04-02188.

### Поиски микроРНК как биомаркёров фолликулогенеза

**Шкурят Т.П.<sup>1</sup>, Пономарева Н.С.<sup>1</sup>, Григорян Н.А.<sup>2</sup>, Рогачева Е.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Южный федеральный университет, г.Ростов-на-Дону  
<sup>2</sup> Ростовский государственный медицинский университет, г.Ростов-на-Дону  
tshkurat@sfedu.ru

Репродуктивная функция человека зависит от комплексных, но строго предопределённых гипоталамо-гипофизарно-гонадных взаимодействий. Фолликулогенез рассматривается как постоянный процесс иерархии фолликулов, при котором одновременно происходит рост и созревание одних фолликулов и атрезия других. Почему в каждом менструальном цикле женщины в развитие вступают в среднем около 30 фолликулов, а продолжает свое развитие только один — доминирующий фолликул, в то время как у других млекопитающих число доминирующих фолликулов в одном цикле может быть намного больше десяти?

Целью данного исследования было изучение особенностей распространения микроРНК вокруг генов гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси у млекопитающих с большим числом доминирующих фолликулов (*Canis lupus familiaris*, *Mus musculus*, *Oryctolagus cuniculus*, *Sus scrofa*, *Rattus norvegicus*) и с одним доминирующим фолликулом (*Homo sapiens*, *Ovis aries*, *Bos taurus*,

Gorilla gorilla, Macaca mulatta, Pan troglodytes Pongo abelii, Ovis aries). В геномах этих животных исследовали локализацию микроРНК в интронах и цис-регуляторных районах генов — альфа цепи гонадотропного гормона (*CGA*), фолликулостимулирующего гормона (*FSHB*), лютеинизирующего гормона (*LHB*) и тиреотропного гормона (*TSHB*). Все последовательности были извлечены из базы данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) помощью набора разработанного нами скриптов IFITCN. Последовательности микроРНК были взяты из базы данных miR-Base (<http://mirbase.org/>). Биоинформационный анализ осуществлялся с помощью GLAM2 и разработанного нами программного обеспечения Mscanner.

В результате биоинформационного анализа на участках с общей длиной более 4 миллионов пар нуклеотидов было обнаружено 5967 совпадений с последовательностями зрелых микроРНК с вероятностью более 85%. В цис-регуляторных районах гена *CGA* у животных с формированием одного доминантного фолликула расположено от 167 до 262 зрелых микроРНК, что в два раза больше по сравнению с другой группой животных (68—130). В гене *FSHB* у животных с формированием одного доминантного фолликула расположено от 267 до 367 зрелых микроРНК, что существенно превышает эти значения в другой группе животных (99—217). У всех животных вокруг гена *LHB* локализовано от 1 до 9 молекул микроРНК, а вокруг гена *TSHB* от 11 до 219, независимо от числа созревания доминирующих фолликулов. Расчёт коэффициентов корреляции позволил установить зависимости между числом найденных зрелых микроРНК в окрестностях генов *CGA* и *FSHB* и показателями репродуктивной системы, а именно: возрастом начала половой зрелости у самок  $r = 0,69$  (*CGA*)  $r = 0,77$  (*FSHB*), продолжительностью цикла  $r = 0,68$  (*FSHB*), количеством выводков в год  $r = 0,74$  (*CGA*), количеством детенышей в выводке  $r = 0,82$  (*FSHB*), продолжительностью овуляции (эструса)  $r = 0,83$  (*FSHB*), продолжительностью беременности  $r = 0,89$  (*FSHB*), весом при рождении  $r = 0,86$  (*FSHB*) интервалом между родами,  $r = 0,79$  (*CGA*)  $r = 0,87$  (*FSHB*). Таким образом, микроРНК выполняют важную регуляторную роль в процессе фолликулогенеза.

Исследование выполнено при поддержке МОН РФ в рамках проектной части государственного задания в сфере научной деятельности №6.703.2014/К.

### Прогностическое значение поражения костного мозга (КМ), выявляемого на основании экспрессии опухоль-ассоциированных генов (ОАГ) у пациентов с нейробластомой

Шориков Е.В.<sup>1,2</sup>, Друй А.Е.<sup>1,2,3</sup>, Цаур Г.А.<sup>1,2</sup>,  
Тупоногов С.Н.<sup>1</sup>, Попов А.М.<sup>1,2</sup>, Савельев Л.И.<sup>1,2,3</sup>,  
Фечина Л.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Областная детская клиническая больница №1, Екатеринбург, Россия

<sup>2</sup> Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург, Россия

<sup>3</sup> Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия  
620149, Россия, Екатеринбург, ул. С.Дерябиной, 32  
[uraltmolgen@gmail.com](mailto:uraltmolgen@gmail.com)

Для исследования наличия опухолевых клеток в КМ была создана панель из четырёх ОАГ: *RHOX2B*, *TH*, *ELAVL4* и *GD2*, экспрессия которых исследовалась с помощью ПЦР в режиме реального времени. В качестве позитивных контрольных образцов исследовались клеточные линии (Kelly, IMR32), в качестве негативных — 26 образцов КМ от 20 пациентов без злокачественных опухолей. Исследуемая группа включала 331 образец КМ от 57 больных нейробластомой. С целью установления порогового уровня (ПУ) экспрессии каждого ОАГ применялся ROC-анализ, для которого истинно-позитивными признавались

образцы, в которых выявлялась экспрессия гена *RHOX2B* и/или обнаруживались опухолевые клетки в цитологических препаратах. Установленные ПУ были использованы для расчёта диагностической эффективности тестов (ДЭТ). Для проведения подтверждающих расчётов ПУ и ДЭТ, экспрессия ОАГ анализировалась в дополнительной группе, включающей 311 образцов КМ от 55 пациентов. Наличие персистирующих опухолевых клеток оценивалось в 23 препаратах периферических стволовых клеток (ПСК). Прогностическое значение наличия экспрессии ОАГ в КМ оценивалось на основании показателей 5-летней бессобытийной (БСВ) и общей выживаемости (ОВ) пациентов. Медиана времени наблюдения достигла 2,45 года.

Матричная РНК генов *RHOX2B* и *TH* не была выявлена в образцах интактного КМ, тогда как экспрессия *ELAVL4* определялась в 20, а *GD2* — в 15 из 26 образцов данной группы. В анализируемой группе образцов КМ больных нейробластомой 105 имели экспрессию гена *RHOX2B* и только 101 — *TH*, экспрессия которого была выявлена в 5 из 224 негативных образцов КМ. Экспрессия *ELAVL4* и *GD2* обнаруживалась во всех 107 позитивных образцах и в большинстве негативных (209 и 197 из 224 соответственно). Проведенный ROC-анализ позволил установить ПУ экспрессии ОАГ с наилучшим разделением позитивных и негативных образцов, которые для генов *TH*, *ELAVL4* и *GD2* составили соответственно -16,535, -7,130 и -8,459, а рассчитанные на их основании величины ДЭТ — 0,952, 0,828 и 0,767. ДЭТ для гена *RHOX2B* достигла 0,994. Высокие значения ДЭТ генов *RHOX2B* и *TH* были подтверждены при анализе экспрессии данных генов в дополнительной группе (0,997 и 0,939, соответственно), ПУ для гена *TH* составил -13,995. Наличие экспрессии генов *RHOX2B/TH* в КМ пациентов с нейробластомой при первичной диагностике приводит к снижению как БСВ ( $0,31 \pm 0,12$  vs.  $0,81 \pm 0,06$ ,  $p < 0,001$ ), так и ОВ ( $0,31 \pm 0,13$  vs.  $0,87 \pm 0,05$ ,  $p < 0,001$ ). Персистенция экспрессии ОАГ в процессе терапии проявляется в тенденции к снижению БСВ ( $0,27 \pm 0,12$  vs.  $0,43 \pm 0,19$ ,  $p = 0,08$ ). Экспрессия генов *RHOX2B/TH* не была обнаружена ни в одном из 23 образцов ПСК, в то же время, наличие экспрессии данных генов в КМ перед процедурой афереза ПСК ассоциировано с резким снижением выживаемости пациентов, несмотря на проведение CD34+ селекции (БСВ  $0,00$  vs.  $0,35 \pm 0,14$ ,  $p = 0,04$ ; ОВ  $0,00$  vs.  $0,36 \pm 0,15$ ,  $p = 0,03$ ). Также было отмечено, что преобладание величины экспрессии *RHOX2B* над уровнем экспрессии *TH* в КМ пациентов при первичной диагностике более чем на 1,68 имеет негативное прогностическое значение: БСВ  $0,00$  vs.  $0,56 \pm 0,12$ ,  $p = 0,017$ , ОВ  $0,00$  vs.  $0,72 \pm 0,11$ ,  $p = 0,006$ .

Таким образом, выявление экспрессии генов *RHOX2B* и *TH* является наиболее оптимальным маркером поражения КМ у пациентов с нейробластомой. Присутствие мРНК данных генов в КМ при первичной диагностике, а также перед аферезом ПСК имеет негативное прогностическое значение. Обнаружение преобладания экспрессии *RHOX2B* над *TH* в КМ первичных пациентов может быть полезно для выделения пациентов группы высокого риска.

### Анализ геномного контекста мутации с.35delG гена *GJB2* у белорусских пациентов с потерей слуха в сравнении с пациентами из Сибири

Шубина-Олейник О.А.<sup>1</sup>, Сияевская М.Г.<sup>1</sup>,  
Зыцарь М.В.<sup>2,3</sup>, Меркулова Е.П.<sup>4</sup>, Посух О.Л.<sup>2,3</sup>,  
Барашков Н.А.<sup>5,6</sup>, Михальская В.Ю.<sup>2,3</sup>, Даниленко Н.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup> [Oleinik.Olga@yahoo.co.uk](mailto:Oleinik.Olga@yahoo.co.uk)

<sup>3</sup> Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>4</sup> Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия



<sup>4</sup> *Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь*

<sup>5</sup> *ФГБНУ «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем», Якутск, Россия*

<sup>6</sup> *Институт естественных наук, ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», Якутск, Россия*

Мутация с.35delG в гене *GJB2* (Cx26, 13q11-q12) является основной генетической причиной (до 60% всех случаев) несиндромальной потери слуха в популяциях Европы, США и Канады. Высокая (до 4%) частота гетерозиготного носительства с.35delG наблюдается у жителей Средиземноморья, ещё более высокая встречаемость с.35delG (5,6%) была недавно выявлена в Беларуси. Общепринята гипотеза о возникновении мутации с.35delG на территории Средиземноморья около 10 000–14 000 лет назад и её последующей распространённости с миграционными потоками по территории Европы. Для верификации возможного происхождения мутации с.35delG у белорусских пациентов с потерей слуха от общеевропейского основателя, мы провели анализ генетического окружения этой мутации у 86 белорусских пациентов с генотипом с.35delG/с.35delG. Анализ гаплотипов, включающих два STR-маркёра (D13S141 и D13S175), фланкирующих мутацию с.35delG, показал, что на 72% хромосом обследованных пациентов представлен гаплотип 127-105 (D13S141-D13S175), который наиболее распространён в различных европейских странах и считается гаплотипом-основателем для с.35delG. Вторым по частоте (18%) у белорусских пациентов является гаплотип 125-105 (D13S141-D13S175). Анализ этих же STR-маркёров у 24 пациентов из Сибири, гомозиготных по с.35delG, показал, что мажорным у них является гаплотип 123-105 (60%), который, как описано ранее, является основным для пациентов татарского и башкирского происхождения, а вторым по частоте — гаплотип 121-105 (29%), ранее выявленный только у жителей Турции и США, не имеющих мутации с.35delG. Полученные данные о гаплотипах, ассоциированных с мутацией с.35delG, у пациентов из Беларуси и ряда регионов Сибири не противоречат гипотезе о её едином предке, но демонстрируют разнообразие генетического окружения мутации с.35delG, возникшее, вероятно, в процессе её распространения в разных этнических группах в результате мутационных и рекомбинационных изменений.

*Работа поддержана грантами БФФИ №Б14Р-081 и РФФИ №14-04-90010\_Бел.*

## Клинический случай синдрома де ля Шапеля

*Шульгин Д.А., Донников М.Ю., Зубайдулина С.Р., Ложкин Д.А., Волькова А.А., Михна И.Н., Гильнич Н.А., Колбасин Л.Н.*

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

Клинические случаи синдрома де ля Шапеля (OMIM 278850), описанного в 1972 г. (de la Chapelle A, 1972), встречаются достаточно редко, 4–5 случаев на 100 000. Пробанд — мужчина, 30 лет, обратился за медицинской помощью в связи с первичным бесплодием в течение 3 лет. Дважды при микроскопическом исследовании эякулята выявлены единичные сперматозоиды с гипо- и акинезисом. При анализе гормонального профиля выявлен низко-нормальный уровень тестостерона (2,74 нг/мл, N = 1,75–11,0 нг/мл), нормальный уровень эстрадиола, прогестерона, Т3, Т4, ТТГ и выраженное повышение уровня ФСГ (39,66 мМЕ/мл, N = 1,27–19,26 мМЕ/мл), ЛГ (17,85 мМЕ/мл, N = 1,24–8,62 мМЕ/мл), пролактина (28,4 нг/мл, N = 2,6–14,7 нг/мл), направлен эндокринологом на приём к врачу-генетику с диагнозом: *гиперфункция гипофиза*.

При обследовании в медико-генетической консультации у пациента выявлены следующие фенотипические особенности: умеренная гинекомастия, высокий тембр голоса, лёгкие признаки евнухоидного телосложения, гипоплазированные плотные яички, оволосение по мужскому типу, однако слабо выраженное. ИМТ = 23,8 кг/м<sup>2</sup>. Интеллект достаточно высокий, специфический склад характера. В анамнезе: дважды операция по поводу варикоцеле. Наследственный анамнез не отягощён. При проведении цитогенетического исследования (разрешение 550 бэндов) выявлен женский кариотип 46, XX. При дообследовании молекулярно-генетическими методами выявлено наличие у пациента Y-специфических маркёров *SRY*, *ZFY*, и обнаружена микроделеция локусов AZF-A, B, C.

Для уточнения диагноза проведена FISH-диагностика: использование специфических зондов на центромеру X-хромосомы и SRY-регион Y-хромосомы показало присутствие SRY-региона на коротком плече одной X хромосомы. Дальнейшее использование зондов на специфичный район и на полное окрашивание Y-хромосомы показало наличие вставок Y-хромосомы в короткие и длинные плечи обеих X-хромосом. Таким образом сделано заключение о кариотипе пациента 46,XX,t(X;Y)(p22.3;p11.3)(SRY+).

Интересным фактом является возможная перспективность пациента для применения ВРТ, несмотря на выявленную микроделецию локусов AZF-A, B, C, в то время как большинство пациентов с данным синдромом абсолютно бесплодны (E. Vona et al., 2007).

## Анализ спектра мутаций в гене *SDHD* при параганглиоме

*Шульская М.В.<sup>1</sup>, Золотова С.В.<sup>2</sup>, Шадрина М.И.<sup>1</sup>, Сломинский П.А.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> *ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, площадь академика И.В. Курчатова, д.2, Москва  
m.shulskaya@gmail.com*

<sup>2</sup> *НИИ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко РАМН, 1-й Тверской-Ямской переулоч, д.13/5, Москва*

Парагангиома — преимущественно доброкачественное новообразование, развивающееся из ассоциированных с симпатическими и парасимпатическими ганглиями клеток параганглиев, расположенных в области аурикулярной ветви блуждающего нерва, барабанного нерва, луковичи яремной вены. По характеру наследования различают семейную аутосомно-доминантную форму параганглиомы и спорадическую, при этом на долю семейной формы приходится по разным оценкам 10–50% от общего числа случаев заболевания.

В настоящее время идентифицирован ряд генов, мутации в которых приводят к развитию заболевания. Наиболее часто при параганглиоме встречаются мутации в гене *SDHD*, кодирующем субъединицу D сукцинатдегидрогеназного комплекса. В связи с этим на первом этапе изучения генетических причин развития параганглиомы в российской популяции нами было проведено ресеквенирование гена *SDHD* у 76 пациентов с параганглиомами различной локализации (основание черепа, шея, область яремной впадины и др.). Всего было выявлено 5 пациентов с мутациями в гене *SDHD*, что составляет 6,5% от общего числа исследованных больных. Среди них есть как встречающиеся ранее мутации (His102Arg и Tyr114Cys), так и мутация Thr105Stop, обнаруженная впервые. Наиболее частой оказалась мутация His102Arg, ранее описанная Roepfel et al. (2011) у пациента из США — она выявлена у 3 больных. Анализ семей пациентов с мутациями в гене *SDHD* выявил 2 носителей мутации His102Arg, у которых пока не обнаружено клинических проявлений параганглиомы.

**Медико-генетическое консультирование пациентов с наследственными дистрофиями роговицы**

**Шурыгина М.Ф.<sup>1</sup>, Хлебникова О.В.<sup>2</sup>, Малюгин Б.Э.<sup>1</sup>, Борзенко С.А.<sup>1</sup>, Логинова А.Н.<sup>2</sup>, Полянская Е.Г.<sup>1</sup>, Антонова О.П.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н.Федорова» Москва, Россия

dr.shurygina@mail.ru

<sup>2</sup> ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН, Москва, Россия

К настоящему времени хорошо изучены клинико-генетические характеристики 20 нозологических форм наследственных заболеваний роговицы, представленных 35 генетическими вариантами. Учитывая возможности современных микрохирургических вмешательств, точное знание клинико-генетической формы заболевания роговицы позволяет определить оптимальные сроки и тактику проведения операции у таких пациентов.

Цель: оценить результаты медико-генетического консультирования пациентов с некоторыми наследственными дистрофиями роговицы.

Три пациента с прогрессирующим помутнением роговицы в возрасте 1–3 лет проходили медико-генетическое консультирование с проведением молекулярно-генетического анализа образцов ДНК.

После комплексного клинико-функционального обследования у всех трёх пациентов установлена эндотелиальная форма дистрофии роговицы. Поиск мутаций проводился в генах *COL8A2* (эндотелиальная аутосомно-доминантная дистрофия роговицы Фукса 1 типа), *SLC4A11* (дистрофия роговицы Фукса 4 типа и аутосомно-рецессивная эндотелиальная дистрофия роговицы «отек Маумени» тип 1) и *CHST6* (дистрофия роговицы Грену 2 типа). Обнаружены мутации в гене *SLC4A11*, следовательно, в двух из трёх случаев молекулярно-генетическими методами был подтвержден клинический диагноз эндотелиальной дистрофии роговицы «отек Маумени» с аутосомно-рецессивным типом наследования и тип Фукса (аутосомно-доминантное и дигенное наследование). У пациента с клиникой, идентичной дистрофии роговицы Грену 2 типа (аутосомно-рецессивным наследованием) представляется необходимым продолжить поиск патогенных мутаций. Пациентам рассчитана величина риска повторения заболевания в семье, дано медико-генетическое заключение.

**Молекулярно-цитогенетические факторы неэффективности терапии ингибиторами тирозинкиназ у больных ХМЛ**

**Шухов О.А., Челышева Е.Ю., Абдуллаев А.О., Обухова Т.Н., Туркина А.Г.**

ФГБУ Гематологический научный центр МЗ РФ, Москва. shuhov@list.ru

Точковые мутации гена *BCR-ABL* и дополнительные хромосомные аномалии (ДХА) являются наиболее изученными факторами, сопряжёнными с неэффективностью терапии ингибиторами тирозинкиназ (ИТК). Недостаточно изучено значение мутаций *BCR-ABL* при длительной последовательной терапии иматинибом и ИТК2, а также значение сочетания мутаций и ДХА.

Цели и задачи: оценить значение мутаций *BCR-ABL* у больных с неэффективностью терапии иматинибом, переключенных на ИТК2; определить клиническое значение мутаций *BCR-ABL* у больных с ДХА.

В исследование включены пациенты с неэффективностью терапии иматинибом (ИМ) (n = 68), которым было выполнено исследование мутационного статуса *BCR-ABL* методом прямого секвенирования ДНК по Сенгеру, а также 16 пациентов с ДХА.

На терапию ИТК2 были переключены 69% больных (n = 47/68, Ме терапии ИМ 62 мес., Ме терапии ИТК2 59 мес.).

Мутации выявлены в 32,4% (n = 22/68) случаев. У больных без полного цитогенетического ответа (ПЦО) за весь период терапии ИМ мутации были выявлены в 40,6% (n = 13/32), а у больных, потерявших ПЦО на любом этапе терапии ИМ, в 25% (n = 9/36) (p = 0,17). Мутации, влияющие на выбор ИТК2, были выявлены в 36,4% (n = 8). Локализация: Р-петля 41,7%, АТФ-связывающий и каталитический домен по 20,8%, А-петля 16,7%. Вероятность достижения ПЦО за 4 года терапии ИТК2 у больных с мутациями *BCR-ABL* на ИМ и без мутаций достоверно не отличалась (72,2% и 77%, p = 0,79). Выживаемость без прогрессии (ВБП) была достоверно выше у больных без мутаций, чем у больных с мутациями (90,5% и 49,5%, p < 0,05). У пациентов без ПЦО на ИТК2 и без мутаций на ИМ, 8-летняя ВБП составила 84,6%, а у больных с мутациями на ИМ 16,7% (p = 0,01). У больных с ДХА в Рн-позитивных клетках мутации были выявлены в 43,75% (7/16). 10-летняя ВБП у больных с сочетанием мутаций и ДХА была достоверно ниже, чем у больных только с ДХА (38% и 100%, p = 0,014). У больных с мутациями, выявленными на терапии ИТК2 (n = 16), 8-летняя ВБП составила 30,7%.

Вероятность достижения ПЦО на ИТК2 у больных с резистентностью к ИМ не отличается в группах с мутациями *BCR-ABL* и без мутаций. Сохранение или развитие новых мутаций у больных, получающих ИТК2, а также выявление мутаций у больных с ДХА являются неблагоприятными факторами, которые увеличивают вероятность прогрессии и смерти в данных группах больных.

**Структура аутосомно-рецессивных наследственных моторно-сенсорных нейропатий в РФ**

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

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», ул. Москворечье, 1, Москва, Россия tatianna\_milovidova@mail.ru

Наследственные моторно-сенсорные нейропатии (НМСН) — обширная группа клинически и генетически гетерогенных заболеваний периферической нервной системы, распространённость которых составляет 1:3000 чел. В настоящее время известно более 50 локусов и открыто более 30 генов, ответственных за развитие НМСН. Наиболее изучены НМСН с аутосомно-доминантным (АД) типом наследования. Поэтому определение доли различных вариантов НМСН с аутосомно-рецессивным (АР) типом наследования среди всех АР НМСН и разработка алгоритма их молекулярно-генетической диагностики представляет собой существенный интерес.

Проведён анализ ДНК 23 неродственных семей с демиелинизирующим типом НМСН и 92 неродственных семей с аксональным и промежуточным типами НМСН. ДНК-анализ проводился в два этапа. На первом этапе были разработаны две системы детекции наиболее частых по данным литературы мутаций в пяти генах (*FGD4*, *FIG4*, *GDAP1*, *NDRG1*, *SH3TC2*), ответственных за возникновение различных вариантов АР НМСН методом мультиплексной проба-зависимой лигазной реакции (MLPA). На следующем этапе ДНК-анализа методом прямого автоматического секвенирования была исследована кодирующая последовательность гена *GDAP1*, ответственного за возникновение НМСН 4А типа. Проведён анализ клинических данных для 12 пациентов с подтверждённым НМСН 4А типом.

Генетический вариант АР НМСН в первой выборке был определен в 6 семьях (26%), во второй выборке — в 25 семьях (27%). Мутации были выявлены в генах: *FIG4*, *GDAP1*, *NDRG1*, *SH3TC2*. В гене *FGD4* исследуемых мутаций выявлено не было.

Разработан алгоритм клинико-молекулярно-генетической диагностики АР НМСН для российских больных.

## Роль фактора роста эндотелия сосудов в патогенезе немелкоклеточного рака лёгкого

Щаюк А.Н.<sup>1</sup>, Шепетько М.Н.<sup>2</sup>, Михаленко Е.П.<sup>1</sup>, Чеботарева Н.В.<sup>1</sup>, Писарчик С.Н.<sup>3</sup>, Прохоров А.В.<sup>2</sup>, Круникова Э.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», г. Минск, ул. Академическая, 27, 220072  
anna.schayuk@gmail.com

<sup>2</sup> УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, пр-т Дзержинского, 83

<sup>3</sup> УЗ «Городское клиническое патологоанатомическое бюро», г. Минск, ул. Семашко, 8

Ангиогенез является важным процессом в патогенезе любых злокачественных новообразований, в том числе и немелкоклеточного рака лёгкого (НМРЛ). Центральную роль в ангиогенезе играет сосудистый эндотелиальный фактор роста VEGF-A.

Целью данного исследования является оценка возможных ассоциаций функциональных полиморфизмов в позициях -2578C>A, -634G>C, и +936C>T гена *VEGF* с прогрессированием НМРЛ у пациентов, проживающих на территории Республики Беларусь. Данные полиморфизмы располагаются в ключевых регуляторных элементах гена *VEGF*: -2578C>A в промоторной области, -634G>C в 5'- и +936C>T в 3'-UTR элементах гена, что влияет на эффективность трансляции белка и экспрессию VEGF в опухолевой ткани.

В исследование были включены 202 пациента с диагнозом НМРЛ. В контрольную группу вошли 336 чел. без онкопатологии, соответствующих группе пациентов по возрасту, полу и сопутствующим заболеваниям.

Не выявлено достоверных ассоциаций между изучаемыми полиморфными аллельными вариантами и регионарным и/или отдалённым метастазированием. Не обнаружено никаких ассоциаций между полиморфными вариантами в положении -634G>C и выживаемостью пациентов с НМРЛ. У носителей генотипа -2578CC большая степень распространения опухоли (T2-T4) встречалась достоверно чаще ( $p = 0,002$ ), чем меньшая степень распространённости первичного очага (T1), а у носителей генотипа -2578CA чаще ( $p = 0,021$ ) встречается малый инвазивный рак (T1). Для -2578CA полиморфизма выявлена значимая взаимосвязь в исследуемой популяции и с исходом заболевания: носители гетерозиготных генотипов -2578CA ( $p = 0,021$ ) и +936CT ( $p = 0,012$ ) гена *VEGF* достоверно чаще входили в группу наблюдения.

## Гены «фармакологического ответа»: возрастные особенности полиморфизма у жителей Республики Башкортостан

Эрдман В.В., Туктарова И.А., Насибуллин Т.Р., Мустафина О.Е.

Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Россия, г. Уфа, просп. Октября, 71  
e-mail: danivera@mail.ru

Физиологические и биохимические возрастзависимые изменения в организме способны модифицировать процессы всасывания, метаболизма, выведения лекарственных средств (ЛС). Кроме того, для прогноза эффективности применения ЛС важно учитывать популяционные особенности полиморфного состояния генов, обуславливающих чувствительность (устойчивость) к ЛС.

У жителей Республики Башкортостан охарактеризованы полиморфные локусы генов «фармакологического ответа» *ITGB3* (rs5918), *ABCB1* (rs1045642), *PTGS1* (rs3842787), *PTGS2* (rs20417), *F5* (rs6025) и *VKORC1* (rs9934438). Материалом для исследования служили образцы ДНК 832 мужчин и женщин

в возрасте от 21 до 109 лет, не родственных между собой, русских, татар и башкир. Идентификацию аллельных вариантов генов проводили методом ПЦР-ПДРФ или РТ-ПЦР с использованием TaqMan-зондов.

Согласно результатам нашей работы, аллель rs1045642\*Т гена *ABCB1* обнаруживается с высокой частотой у русских (55,3%), башкир (61,1%) и татар (60,2%), как и в популяциях народов Европы. Поскольку носительство аллеля rs1045642\*Т содействует более полному всасыванию и замедленному выведению ксенобиотиков, при назначении ЛС важно проводить тестирование пациентов по данному локусу. Достаточно высокая частота аллеля rs20417\*С гена *PTGS2*, ассоциированного с резистентностью к терапии аспирином, в исследованных популяциях (17,5% у русских, 13,9% у татар, 24,5% у башкир) также свидетельствуют о необходимости его внедрения в качестве фармакогенетического маркера для жителей Республики Башкортостан. В группе стариков по сравнению с группой лиц зрелого возраста наблюдается снижение частоты аллеля rs5918\*С гена *ITGB3* (6,44% против 17,95,  $p = 0,0003$ ). Аллель rs5918\*С обуславливает повышенную адгезию тромбоцитов, а у его носителей повышен риск развития внезапной смерти, ИБС, ИМ и инсульта. В этом случае можно говорить об обороте по заболеваемости и смертности носителей аллеля rs5918\*С в популяции русских.

Работа поддержана грантами РФФИ (№14-04-01169а) и РГНФ (№13-06-00633а).

## Редкий случай синдрома Дауна с дисомией X-хромосомы (48,XXY,+21)

Южакова А.Г., Кадирова И.С., Попова Е.А., Кунцевич Н.В., Новикова М.В., Овсянникова С.Г., Зубайдуллина С.Р., Донников М.Ю., 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

Представляет интерес описание случая сочетанной патологии синдромов Дауна и Клайнфельтера. Пробанд — мальчик родившейся от II беременности, протекавшей на фоне анемии, урогенитальной инфекции, гипотиреоза. Роды I, срочные. При рождении вес 3500 г, рост 53 см, окружность головы 36 см, оценка по шкале Апгар 8/8 баллов. Состояние при рождении удовлетворительное. По результатам неонатального скрининга — врождённый гипотиреоз. Семейный анамнез отягощен по патологии щитовидной железы (субклинический гипотиреоз у мамы). При осмотре врачом-генетиком в возрасте 2 мес., выявлены аномалии развития: плоский профиль лица, короткий нос, монголоидный разрез глаз, короткие глазные щели, короткая шея, ризомелия, поперечная ладонная складка.

Результаты обследования: неонатальный скрининг: фенилаланин 0,3 мкг/дл, тиреотропный гормон повышен до 25,7 / 20,2 / 19,3 мкЕД/мл (норма до 9 мкЕД/мл); 17-гидроксипрогестерон 3,4 нмоль/л; общая галактоза 8,1 / 5,4 / 7,2 мг/дл; T4 общий — 64 мг/дл. УЗ-исследование щитовидной железы без патологии; эхокардиография с цветным картированием и доплерским анализом выявила открытое овальное окно. При цитогенетическом исследовании обнаружена аномалия кариотипа: 48,XXY,+21. Выявлена трисомия 21 хромосомы и дисомия X-хромосомы. Синдром Дауна. Синдром Клайнфельтера. Консультация врача-невролога: перинатальное поражение ЦНС, ранний восстановительный период, синдром двигательных нарушений, задержка моторного развития. Первичный осмотр врача-детского эндокринолога: Синдром Дауна. Врождённый гипотиреоз, перманентная форма, впервые выявленный по результатам неонатального скрининга. Основной диагноз: Синд-



ром Дауна, трисомия 21 хромосомы. Синдром Клайнфельтера, дисомия X-хромосомы. Врожденный гипотиреоз.

По данным зарубежной литературы (A.Schinzel), при подобной сочетанной патологии преобладает фенотип синдрома Дауна, что и наблюдается у данного пациента. В постпубертатный период возможны нарушения развития наружных половых органов и гинекомастия.

## Криобанк микробиоты российского человека

**Юнес Р.А., Полуэктова Е.У., Даниленко В.Н.**

*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, 119991, Москва, ул. Губкина, 3, valerid@vigg.ru*

Микробиота человека — совокупность населяющих его тело микроорганизмов — играет ключевую роль в становлении и поддержании иммунитета и общего гомеостаза, в формировании нервно-психических и поведенческих особенностей человека. Микробиота подразделяется на вагинальную, оральную, глазную, поверхности кожи. Наиболее многочисленна микробиота кишечника. Секвенирование на приборах нового поколения позволило определить в её составе более 1000 видов микроорганизмов, в подавляющем большинстве некультивируемых. Основными филумами являются *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*. Постоянную, хотя и небольшую часть кишечной микробиоты составляют пробиотические бактерии (лактобациллы, бифидобактерии); они могут быть культивированы в лабораторных условиях, для них изучены биохимические и генетические свойства, они используются в качестве лекарственных препаратов. Состав кишечной микробиоты определяется возрастом, диетой, этно-географической принадлежностью и социокультурным статусом популяции. Различия в составе кишечной микробиоты между популяциями людей затрагивают не только роды и виды, но и штаммы. В «супрагеноме» вида бактерий, т.е. совокупности всех генов данного вида, только около 40% генов являются базовыми, консервативными у всех штаммов данного вида. Результаты сравнительной геномики пробиотических штаммов микробиоты человека указывают на кластеризацию по регионам варибельной, уникальной части генома вида; обнаружены пребиотические гены и их композиции, присутствующие только в микробиоме людей, живущих на территории России. Нарушения в составе кишечной микробиоты коррелируют с различными заболеваниями (некротическим энтероколитом, диабетом II типа, ожирением, аллергией, астмой, а также шизофренией, депрессивными расстройствами, аутизмом).

На базе ИОГен РАН создан и продолжает пополняться криобанк образцов кишечной микробиоты (фекалий) жителей России. Образцы криобанка используются и будут использоваться в дальнейшем для метагеномного анализа и определения нормальной микрофлоры, свойственной различным группам населения России; для сохранения полезных генов пробиотического компонента кишечной микробиоты населения России; для ранней диагностики различных заболеваний; для создания новых пробиотических лекарственных препаратов.

## Молекулярно-нейроцитогенетический анализ последствий и причин возникновения соматических вариаций и нестабильности генома при болезнях мозга

**Юров Ю.Б.<sup>1,2,3</sup>, Ворсанова С.Г.<sup>1,2,3</sup>, Демидова И.А.<sup>1,2,3</sup>, Зеленова М.А.<sup>1,2,3</sup>, Куринная О.С.<sup>1,2,3</sup>, Колотий А.Д.<sup>1,2</sup>, Кравец В.С.<sup>1,2,3</sup>, Гордеева М.Л.<sup>2</sup>, Шаронин В.О.<sup>1</sup>, Юров И.Ю.<sup>1,2,4</sup>**

<sup>1</sup> ФБГНУ «Научный центр психического здоровья»

<sup>2</sup> Обособленное структурное подразделение «НИКИ педиатрии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России

<sup>3</sup> Московский городской психолого-педагогический университет

<sup>4</sup> Российская медицинская академия последипломного образования, Москва

В настоящее время широкий спектр межиндивидуальных вариаций генома ассоциирован с нервными и психическими заболеваниями. С другой стороны, показано, что соматические вариации генома (хромосомная или геномная нестабильность) в нервных клетках также являются механизмом болезней мозга. В ходе настоящей работы было проведено исследование, целью которого было определение возможных последствий и причин возникновения мозаичной геномной патологии в клетках мозга при нейродегенеративных болезнях, шизофрении, умственной отсталости и аутизме. Хромосомная и геномная нестабильность в клетках головного мозга исследовалась с помощью оригинальных молекулярно-цитогенетических методов, основанных на FISH и многоцветовом окрашивании хромосом. Были также исследованы регулярные вариации генома в когортах пациентов с данными заболеваниями с помощью методов полногеномного сканирования и биоинформатического анализа. Нестабильность генома в клетках головного мозга наблюдалась в 2,1—21,4% при нейродегенеративных болезнях и в 7,1—51,6% — при психических заболеваниях. Изучение когорт пациентов показало, что вариации генома в виде вариаций числа копий последовательностей ДНК и инtragenных мутаций, затрагивающие гены, вовлечённые в сети (pathways) регуляции сохранности стабильности генома и деления/гибели клеток и обладающие повышенной экспрессией в клетках головного мозга, составляли от 15,1 до 32,5%. Были затронуты следующие геномные сети: репарация и репликация ДНК (включая nucleotide excision/mismatch repair), АТМ-p53-зависимая регуляция репарации ДНК и апоптоза, «сигнальные» геномные сети: p53-/MAPK-/ ErbB-/PI3K/Akt-signaling pathways. Таким образом, проведённое исследование продемонстрировало, что соматические вариации и нестабильность генома в клетках головного мозга при нервных и психических заболеваниях являются одним из критических элементов патогенетического каскада, и возникают за счёт «груза» регулярных (наследуемых) вариаций генома, нарушающих геномные сети регуляции сохранности стабильности генома, а также деления и гибели клеток.

*Исследование осуществлено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант №14-15-00411).*

## Региональный исследовательский биобанк: принципы формирования и перспективы использования

**Юсупов Ю.М.<sup>1</sup>, Асылгузин Р.Р.<sup>1</sup>, Агджоян А.Т.<sup>2</sup>, Схалыхо Р.А.<sup>3</sup>, Балановская Е.В.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> ГБНУ «Институт гуманитарных исследований Республики Башкортостан», г.Уфа, ул. Мажита Гафури, 13/1 ufa1980@yandex.ru

<sup>2</sup> Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, ул. Губкина, 3

<sup>3</sup> ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва, ул. Москворечье, 1

Научным коллективом, включившем генетиков Медико-генетического научного центра, Института общей генетики и этнографов Института гуманитарных исследований Башкортостана, в 2012—2015 гг. проведено масштабное экспедиционное исследование, охватившее Урало-Поволжье и предкавказские степи. Его цель — создание регионального биобанка, который уже включает более 2000 образцов, дифференцированных по этногеографическому принципу. Идет активное взаимодействие с Министерством здравоохранения, региональными и муниципальными властями. Заборы крови производятся в центральных районных больницах, фельдшерско-акушерских пунктах.

Перспективным направлением при формировании геногеографического биобанка рассматривается приложение в персонализированной медицине, что учитывается в специфике формирования выборки:

- масштабные выборки населения дифференцированы по географическому, этническому и субэтническому принципам; для этносов, сохранивших кланово-родовое деление, формирование биобанка ведётся с приоритетным учётом родовой структуры;
- формируются научные коллективы, включающие этнологов и генетиков, ориентированные как на экспедиционную, так и на исследовательскую работу в регионах;
- принципиально важную роль играет установление деловых контактов с учреждениями Минздрава РФ, муниципальных властей в регионах, а также правоохранительных структур, что выражается в составлении договоров, включении штатных сотрудников по взаимодействию с другими учреждениями;
- работа ведётся под контролем Этической комиссии, образцы собираются только при условии письменного информированного согласия, соблюдаются оптимальные условия хранения и архивации биологических образцов с использованием международного опыта и стандартов.

*Работа поддержана грантами РФФИ 13-06-00670, 15-36-50414\_мол-нр.*

### **Синдром Леша—Нихана с формированием хронической почечной недостаточности у ребёнка раннего возраста**

**Яблонская М.И.<sup>1</sup>, Новиков П.В.<sup>1</sup>, Прыткина М.В.<sup>1</sup>, Папиж С.В.<sup>1</sup>, Комарова О.Н.<sup>1</sup>, Захарова Е.Ю.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Обособленное структурное подразделение НИКИ педиатрии, 125412, Москва, ул. Талдомская, д. 2  
e-mail: i.yablonsky@mail.ru

<sup>2</sup> ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН, 115478, Москва, ул. Москворечье, д.1

Синдром Леша—Нихана — заболевание из группы наследственных нарушений обмена пуринов, обусловленное недостаточностью фермента гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы (ГФРТ) вследствие мутаций в гене *HPRT1*. Частота синдрома Леша—Нихана 1 : 235 000 — 1 : 380 000 живорождённых. Тип наследования X-сцепленный. Клинически заболевание характеризуется двигательными нарушениями, преобладающими церебральный паралич, в сочетании с когнитивными и поведенческими расстройствами (аутоагрессией) и гиперпродукцией мочевой кислоты с развитием уратной нефропатии, а у взрослых больных — подагрического артрита.

В связи с редкостью патологии и необычайно ранним формированием картины хронической почечной недостаточности мы приводим описание синдрома Леша—Нихана у мальчика младенческого возраста. Заболевание манифестировало с 4 месяцев, когда появилось беспокойное поведение ребёнка, запрокидывание головы, в анализах мочи выявлялись соли мочевой кислоты. Больной был обследован в клинике НИКИ педиатрии в возрасте 1 года 5 месяцев. Отмечалась выраженная задержка психомоторного развития с умеренной гипотонией мышц, дистонией в конечностях при эмоциональном напряжении и попытках произвольных движений, тоническим выгибание туловища назад при попытке сесть. В сыворотке крови определялся высокий уровень мочевой кислоты — до 0,86 ммоль/л, а в суточном анализе мочи коэффициент соотношения уратов к креатинину достигал 2,3 (норма до 1,4). При УЗИ почек отмечено наличие кортикального и медуллярного нефрокальциноза, кистоза пирамидок. Были выявлены признаки хронической почечной недостаточности: повышение уровня мочевины до 9,6 ммоль/л в сыворотке крови, снижение скорости клубочковой фильтрации до 32,4 мл/мин (норма 80—120),

гипоизостенурия. У больного был заподозрен синдром Леша—Нихана, который подтвержден обнаружением мутации с.610C>G (p.204Hys>Asp) в гене *HPRT1*, описанной в базе данных.

Из-за наличия почечной недостаточности терапия аллопуринолом в данном случае противопоказана. Назначен повышенный питьевой режим, диета с ограничением пуринов, коррекция потребления белка. Рассматривается возможность трансплантации почек.

### **Результаты многолетнего наблюдения за состоянием органа зрения у больных с марфаноподобным фенотипом**

**Январева О.К., Мхеидзе М.О.**

*Санкт-Петербург*

Цель работы: исследовать офтальмологический статус пациентов с марфаноподобным фенотипом.

Под наблюдением находилось 6 больных (12 глаз) в возрасте 5—37 лет (больные мужского пола — 3, женского пола — 3), срок наблюдения 5—28 лет. Марфаноподобный фенотип — генетически гетерогенная и полиморфная группа нарушений соединительной ткани. У обследованных больных марфаноподобный фенотип включал в себя синдром Марфана (OMIM 154700, 5 случаев) и синдром Элерса—Данлоса (OMIM 225400, 1 случай). Анализ родословных подтверждал аутосомно-доминантный и аутосомно-рецессивный типы наследования соответственно. Все пациенты были обследованы в МГЦ Санкт-Петербурга, где нозологические формы были диагностированы фенотипически. В соматическом статусе всех пациентов имели место высокий рост, деформация грудной клетки (оперативное вмешательство по поводу *rectus excavatum* тяжелой степени осуществлено в 2 случаях синдрома Марфана), сколиоз, арахнодактилия, гипермобильность суставов, пролапс митрального клапана (2 случая синдрома Марфана), сочетанный пролапс трикуспидального и митрального клапанов (1 случай синдрома Марфана).

Офтальмологический статус всех пациентов включал врожденную миопию средней и высокой степени с астигматизмом, дислокацию хрусталика (подвывихи и вывихи).

В одном случае синдрома Марфана вывих в стекловидную полость повлёк за собой развитие периферической хориоретинальной дистрофии с разрывами сетчатки, развитием гемофтальма, что потребовало развернутого хирургического лечения в объёме витрэктомии и эндолазерной коагуляции сетчатки. Из-за отсутствия стабилизации биометрических параметров глаза всем пациентам проводились многократные этапы склероукрепляющего хирургического лечения.

У больной с синдромом Элерса—Данлоса имелась пигментная абиотрофия сетчатки с концентрическим сужением периферических границ поля зрения до 10° от точки фиксации и гиперметропия с астигматизмом. Все пациенты получали оптическую коррекцию.

### **Молекулярно-цитогенетические аспекты и применение вспомогательных репродуктивных технологий при нарушении репродуктивной функции у мужчин**

**Ярошкевич С.А., Бакулина Е. Г., Терещенко В.В., Карнаухова Н.В., Атмачева И.А., Пчелинцев Л.А.**

*Ставропольский краевой клинический консультативно-диагностический центр  
skkdc@skkdc.ru*

Цель исследования: проанализировать выявленную молекулярно-цитогенетическую патологию в группе пациентов

с тяжёлой азооспермией и применение полученных данных при ВРТ.

Нами в 2011—2014 гг. было обследовано 174 мужчин репродуктивного возраста (средний возраст 35 лет). Им было проведено цитогенетическое исследование (кариотип), исследование хлоридов в потовой жидкости, молекулярно-генетическое исследование на 16 наиболее частых мутаций в гене *CFTR* наборами реагентов «CF-11» и «CF-5» (Россия). Проведён поиск микроделеций *AZFa*, *AZFb* и *AZFc* регионов в Y-хромосоме с помощью набора «AZF» (Россия).

На консультацию к генетику направлено 110 пациентов, цитогенетическое исследование (кариотип) проведено у 90 чел. (81%), у 21 (22,2%) пациентов выявлена хромосомная патология: синдром Клайнфельтера (47, XXY) — 16 случаев; полисомия Y мозаичный вариант (47, XYY/46, XY) — 1 случай; дополнительная маркерная хромосома (47, XY, +mar) — 1; крупная делеция длинного плеча Y-хромосомы 46, XY, del(Y)(q11) — 3 случая. Выявлены повышенные результаты исследований хлоридов пота в 52 случаях, которые обследованы на 16 наиболее частых мутаций в гене *CFTR*, из них выявлены 4 мутации у 4 пациентов, что составило 7,7%. Выявленные мутации delF508, 1677DelPТА — 2 и G542X находились в гетерозиготном состоянии. Учитывая высокий уровень показаний хлоридов в поте и результаты исследования спермы у остальных пациентов возможно наличие редкой мутации гена *CFTR*. На *AZF*-фактор было обследовано 52 пациента. Всего выявлено 10 случаев патологии (19,2%): 3 крупные делеции длинного плеча хромосомы Y(q11) у 3 пациентов и 7 микроделеций у 7 пациентов. С крупной делецией, захватывающей регион *AZFa* и *AZFc* выявлен 1 пациент, захватывающие регион *AZFb* и регион *AZFc* — 3 пациента, данные делеции указывают на невозможность получения сперматозоидов. У 3 пациентов выявлена полная или частичная делеция региона *AZFc*, при которой возможно получить сперматозоиды, пригодные для искусственного оплодотворения.

В случае необструктивной азооспермии пациентам предлагалось использовать сперму донора (инсеминация) или экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО). В случае обструктивной азооспермии пациенту выполнялась аспирация из придатка яичка (PESA), аспирация из паренхимы яичка (TESA), экстракция (биопсия) паренхимы яичка (TESE). Полученные сперматозоиды были использованы в цикле ЭКО, ИКСИ (непосредственное введение сперматозоида в цитоплазму яйцеклетки), а также криоконсервированных сперматозоидов.

У 30 пациентов с азооспермией было проведено 34 операции PESA, TESA, TESE. У данных пациентов, которым проводились манипуляции, цитогенетическое исследование (кариотип) — норма, мутации в гене *CFTR* и делеций *AZF*-фактора не выявлено. У 22 пациентов (76,6%), было получено достаточное количество подвижных сперматозоидов, используемых в дальнейшем в цикле ИКСИ или криоконсервации. В 5 семьях (22,7%) наступила беременность. Остальные пациенты в настоящее время проходят программу подготовки к ЭКО (ИКСИ).

### Онкогематологические заболевания и полиморфные маркеры генов семейства *IL1*

*Асекретова Т.В.<sup>1</sup>, Кондратьева Е.И.<sup>1,2</sup>, Лошкова Е.В.<sup>2</sup>, Тарасенко Н.В.<sup>3</sup>, Трембач А.В.<sup>1</sup>, Лебедев В.В.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России, г.Краснодар

<sup>2</sup> ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России, г.Томск

<sup>3</sup> ФГБНУ «НИИМГ», г.Томск

Изучение генетической регуляции иммунного ответа при лимфолифолиферативном воспалении у больных с гемобластомами может иметь значение для понимания механизмов лимфолифолиферативного воспаления и его прогнозирования.

Цель исследования: изучить ассоциации полиморфизмов генов семейства *IL1* (*IL1B* и *IL1RA*) с клиническими вариантами онкогематологических заболеваний (ОГЗ).

Выборка больных ОГЗ 70 чел. (лимфобластный лейкоз, острый миелобластный лейкоз, В клеточная лимфома, Т клеточная лимфома, лимфогранулематоз). Средний возраст пациентов  $7,05 \pm 3,13$  года (3,00—15,00). Группа сравнения 243 чел.

Выявлена ассоциация генотипа A2A2 (OR = 3,01 (95% CI: 1,48—6,16;  $\chi^2 = 9,91$ ; p = 0,002) и аллеля A2 (OR = 2,26 (95% CI: 1,31—3,92;  $\chi^2 = 9,04$ ; p = 0,003) гена *IL1RN*\*VNTR с ОГЗ. Показана ассоциация генотипа A2A2 (OR = 20,89 (95% CI: 2,70—196,5;  $\chi^2 = 13,020$ ; p = 0,001) и аллеля A2 (OR = 3,05 (95% CI: 1,15—8,02;  $\chi^2 = 5,280$ ; p = 0,021) гена *IL1RN*\*VNTR с нарушением функции почек и нейтропенической лихорадкой (аллель A2 OR = 2,26 (95% CI: 1,31—3,92;  $\chi^2 = 9,040$ ; p = 0,003) на фоне терапии ОГЗ.

Обнаружена ассоциация генотипа A2A2 и аллеля A2 *IL1RN*\*VNTR с онкогематологическими заболеваниями и их осложнениями.

### Изучение роли полиморфизма генов *GSTM1*, *GSTT1* и *GSTP1* в патогенезе первичного миелофиброза

*Габдулхакова А.Х., Овсепян В.А., Дьяконов Д.А.*

ФГБУН «Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА», г.Киров, 610027, ул. Красноармейская, 72 mb-x1@mail.ru

В последние годы появляется все больше данных, указывающих на то, что определённый вклад в патогенез злокачественных новообразований, включая первичный миелофиброз (ПМФ), могут вносить конституциональные особенности генома, в частности, полиморфизм генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков (ФБК), участвующих в дезактивации (детоксикации) широкого круга эндогенных и экзогенных веществ, способных повредить клеточный геном. К числу таких генов следует отнести, прежде всего, гены глутатион-S-трансфераз  $\mu 1$  (*GSTM1*),  $\theta 1$  (*GSTT1*) и  $\pi 1$  (*GSTP1*). Неполноценные формы отмеченных ферментов, обусловленные полиморфизмом, способны повысить внутриклеточный генотоксический фон и соответственно повысить повреждаемость генома клетки.

Целью настоящей работы было изучение возможной ассоциации полиморфных вариантов вышеуказанных генов с возникновением ПМФ и степенью выраженности фиброза костного мозга в момент постановки диагноза. Материалом для исследования полиморфизма послужила ДНК, выделенная из мононуклеаров венозной крови 112 больных ПМФ и цельной крови 317 практически здоровых лиц (контрольная группа) стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Детекцию делеционного полиморфизма генов *GSTM1* и *GSTT1* проводили методом мультиплексной ПЦР, генотипирование же полиморфного локуса *A1578G* (*Ile105Val*) в гене *GSTP1* — методом ПЦР с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов. Степень выраженности миелофиброза у больных определяли с помощью гистологического анализа трепанобиоптатов костного мозга. У 80,4% (90/112) (группа 1) и 18,6% (22/112) (группа 2) больных ПМФ обнаружены соответственно мелкоочаговые явления миелофиброза и выраженный диффузный коллагеновый фиброз. Исследование частот встречаемости полиморфных вариантов изучаемых генов ФБК среди больных ПМФ и здоровых лиц не выявило статистически значимых различий, что указывает на то, что полиморфизмы генов *GSTM1*, *GSTT1* и *GSTP1*, скорее всего, не являются факторами риска развития ПМФ. Вместе с тем среди больных групп 1 и 2 обнаружены различия по распределению частот полиморфных вариантов гена *GSTM1*. В частности, гомозиготы по делеции указанного гена достоверно чаще встре-



чались в группе 2 по сравнению с пациентами группы 1 (77,3% и 48,9% соответственно,  $\chi^2 = 3,55$ ;  $p = 0,017$ ;  $OR = 3,55$ , 95%  $CI = 1,21-10,46$ ). Таким образом, впервые обнаружена возможная ассоциация полиморфизма гена *GSTM1* со степенью выраженности миелофиброза при ПМФ в момент постановки диагноза.

## Фармакогенетика антиконвульсантов и тератогенез

*Дмитренко Д.В., Шнайдер Н.А.*

ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Россия, Красноярск, ул.П. Железняка, 1, [mart2802@yandex.ru](mailto:mart2802@yandex.ru)

Цель — оценка тератогенного риска в зависимости от профиля метаболизма противосудорожных средств у женщин с эпилепсией во время беременности.

За 2008—2014 гг. в Университетской клинике КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого наблюдалось 124 случая беременности у 104 женщин, страдающих эпилепсией, в том числе 20 повторных беременностей. Средний возраст пациенток на момент беременности составил  $26,9 \pm 4,6$  года [75% ДИ: 23—31]. Объем обследования: неврологический осмотр, видео-ЭЭГ мониторинг, терапевтический лекарственный мониторинг, молекулярно-генетическое исследование полиморфных аллельных вариантов гена *CYP2C9*, генов фолатного цикла: *MTHFR*, *MTRR*, *MTR*, УЗИ плода.

На момент зачатия 89/124 пациенток (71,8%) получали противосудорожные препараты (ПЭП). В качестве основного ПЭП принимали вальпроаты — 64,0%. Частота носительства полиморфных аллельных вариантов гена *CYP2C9*: генотип *CYP2C9\*1/\*1* — 67,6%, *CYP2C9\*1/\*2* — 12,2%, *CYP2C9\*1/\*3* — 18,9%, *CYP2C9\*2/\*3* — 1,4%. Кумуляция вальпроовой кислоты (ВК) в крови преобладала у носительниц *CYP2C9\*2* (38,5%) и у компаунд-гетерозигот (100%), у носительниц *CYP2C9\*3* (33,3%). ВПР зарегистрированы у 6/124 (4,8%) детей/плодов: 1/124 (0,8%) — аномалия Денди—Уокера, 1/124 (0,8%) — аномалия Арнольда—Киари II типа, 2/124 случаев (1,6%) — ВПР сердца, 1/124 (0,8%) — гипоспадия, 1/124 (0,8%) — не уточнен. В 4/124 (3,2%) случаях ВПР были на фоне приема вальпроатов, 1/124 (0,8%) — барбитуратов, 1/124 (0,8%) — топирамата. Анализ факторов риска ВПР показал, что пациентки с ВПР у плода находились в раннем фертильном возрасте (моложе 35 лет), в 4/4 случаях (100%) женщины принимали тератогенные дозы вальпроатов во время гестации ( $\leq 1000$  мг/сут.), в 1/2 (50,0%) — уровень ВК в крови находился в токсическом диапазоне ( $\leq 100$  мкг/мл). В 1/4 случаев (25,0%) женщина являлась носительницей генотипа *CYP2C9\*2/\*3*, предрасполагающего к замедлению метаболизма вальпроатов в печени с кумуляцией ВК до токсического уровня (100 мкг/мл), в 2/4 (50,0%) — мутантного гомозиготного полиморфного аллельного варианта гена *MTHFR* с гипофолатемией в крови (2,38 нг/мл) и гетерозиготного полиморфного аллельного варианта гена *MTRR* (генотип AG), в 1/4 (25,0%) — зарегистрирован отягощенный наследственный анамнез по ВПР (у пациентки ВПР головного мозга). В 1/124 случаев (0,8%) зарегистрирован синдром Дауна постнатально у ребёнка пациентки, являющейся гомозиготной носительницей полиморфного аллельного варианта гена *MTRR* и не принимавшей ПЭП на момент зачатия.

Генетические особенности метаболизма ПЭП в организме матери и плода, предрасполагающие к замедлению метаболизма вальпроатов в печени в 25% случаев являются причиной тератогенного влияния антиконвульсантов.

## Цито- и молекулярно-генетическая диагностика нарушений сперматогенеза

*Железнова М.А.<sup>1</sup>, Комкова Г.В.<sup>1,2</sup>, Шевцова В.В.<sup>1,2</sup>, Кононенко Н.И.<sup>1,2</sup>, Ржевкина Н.Н.<sup>1</sup>, Бобынцева О.В.<sup>2</sup>, Иванова Н.В.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Медико-генетическая консультация КОКБ, г.Курск

<sup>2</sup> Кафедра биологии, медицинской генетики и экологии КГМУ, г.Курск

E-mail: [okb5@kurskokb.ru](mailto:okb5@kurskokb.ru)

Многоцентровые исследования показали, что бесплодием страдают около 25% супружеских пар, при этом в половине случаев оно обусловлено нарушением репродуктивной функции со стороны мужчин. Сперматогенез представляет собой сложный многоэтапный процесс, завершающийся образованием зрелых мужских половых клеток — сперматозоидов. Нарушение сперматогенеза может проявляться как: азооспермия — отсутствие сперматозоидов в эякуляте; олигозооспермия — пониженная концентрация сперматозоидов ( $< 2$  млн/мл); астенозооспермия — наличие  $< 1$  млн/мл активных сперматозоидов; тератозооспермия — наличие  $< 5\%$  сперматозоидов, имеющих нормальное строение.

За последний год нами прокаротипировано 56 супружеских пар и 17 мужчин, обратившихся самостоятельно с целью медико-генетического консультирования. При цитогенетическом исследовании мужчин отмечался полиморфизм по длинному плечу Y-хромосомы в 35% случаев. Мужчины с экстремальным вариантом нормального полиморфизма Y-хромосомы (рассматривались варианты:  $Yq < G$ ;  $Yq = G$ ) были направлены для дальнейшего молекулярно-генетического обследования, так как методы традиционной цитогенетики не могли полностью обеспечить эффективность выявления и анализа микроделений Y-хромосомы. Используя мультиплексную ПЦР, позволяющую исследовать Y-специфичные маркеры выявлены AZF-микроделеции двух участков (AZFC, AZFB) — в 1 случае (2,7%), частичная — микроделеция одного участка (AZFA, AZFC) — у 2 пациентов (4,6%). Результаты нашей работы соответствуют данным литературы, по которым подобная патология обнаруживается у 7,3% мужчин с бесплодием (большая часть (66%) микроделений найдена у пациентов с азооспермией, в 28% случаев — у пациентов с олигозооспермией тяжелой степени).

Полученные результаты еще раз подтверждают необходимость генетического обследования, включающего цитогенетическое исследование и микроделеционный анализ локусов AZF у пациентов с бесплодием неясного генеза и нарушениями сперматогенеза.

## Генетический портрет муковисцидоза детей и взрослых московского региона

*Капранов Н.И.<sup>1</sup>, Петрова Н.В.<sup>1</sup>, Шерман В.Д.<sup>1</sup>, Кондратьева Е.И.<sup>1</sup>, Красовский<sup>2</sup>, Амелина Е.Л.<sup>2</sup>, Черняк А.В.<sup>2</sup>, Каширская Н.Ю.<sup>1</sup>, Воронкова А.Ю.<sup>1</sup>, Никонова В.С.<sup>1</sup>, Новоселова О.Г.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва, Россия

<sup>2</sup> НИИ пульмонологии ФМБА, Москва, Российская Федерация

Цель: на основе анализа регистра больных муковисцидозом московского региона оценить генетический полиморфизм гена *CFTR* в детском возрасте и у взрослых.

На 31.12.2010 г. в Москве и Московской области состояло на учете 359 пациентов (183 мужского и 176 женского пола). Количество детей составило 107 чел. (до 1 года 26 больных, с 1 до 3 лет — 61 ребенок, с 8 до 10 лет — 35 детей, с 11 лет до

14–38 чел.), подростков (15–18 лет) было 42 чел., взрослых — 99 чел.

В гомозиготном состоянии *F508del* была обнаружена у 32,1% детей, 26,2% подростков и 21,2% взрослых, а в гетерозиготном состоянии — у 21,1% детей, 31% подростка и 40,4% взрослых.

Мутации 1 класса одинаково часто встречаются у детей и взрослых, и составили 6,7% у детей до 18 лет, а у взрослых — 7%. Суммарная аллельная частота «мягких мутаций» составила 7,5% и была у взрослых в 5 раз выше, чем у детей. Мутация *2143delT* и мутация *CFTRdele2,3(21kb)* одинаково часто встречались у детей (6,7 и 6,9%) и взрослых (7% и 6,1%), как и мутация *2184ins*. Мутация *G542X* встречалась преимущественно у подростков и ее частота у детей до 14 лет не отличалась от группы взрослых. В общей группе взрослых мутация *3849+10kbC>T* составляла 11,1% и достоверно отличалась от группы подростков ( $p = 0,0068$ ), а в группе с 30 лет она составила — 28,6%. Мутация *L138ins* не встречалась у взрослых, обнаружена только в группе детей до 3 лет, а мутации S1196X и R334W наоборот редко встречались у детей и преобладали у взрослых. Мутации *E92K* и *N1303K* выявлены у детей.

Важной особенностью генетического профиля больных МВ в московском регионе явилось дифференцированное распределение мутаций гена *CFTR* в возрастном аспекте. Это связано с поздней диагностикой МВ у взрослых на фоне отсутствия до 2006 года неонатального скрининга и высокой частотой «мягких» мутаций, что предполагает различные диагностические панели для детей и взрослых при поздней диагностике заболевания.

### Экспрессионные профили потенциально прогностических и предиктивных генов-маркёров при диссеминированном раке желудка

**Кипкеева Ф.М.<sup>1</sup>, Нариманов М.Н.<sup>2</sup>, Музаффарова Т.А.<sup>1</sup>, Малехова О.А.<sup>2</sup>, Карпухин А.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1, [foty\\_k@mail.ru](mailto:foty_k@mail.ru)

<sup>2</sup> ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина», 115478, Москва, Каширское ш., д. 24

Рак желудка (РЖ) занимает одну из ведущих позиций по заболеваемости и смертности среди онкологических заболеваний в России. Среди большого количества молекулярно-генетических показателей, которые могут влиять на клиническое течение РЖ, особое место отводится поиску маркёров, прогнозирующих метастазирование. Высокая частота выявления РЖ уже на поздних стадиях развития требует разработки маркёров для проведения персонализированной системной терапии.

На данном этапе работы изучали количественные профили экспрессии набора генов — потенциальных маркёров (*HER2/neu*, *VEGF*, *FGFR2*, *TGF-β*, *NRP-1*, *bFGF*, *Ki67*, *PCNA*) — методом ПЦР в реальном времени в парных образцах опухоль — норма при диссеминированном РЖ (ДРЖ). В случаях повышенной экспрессии гена *HER2* (15%) отмечен объективный эффект терапии, включающей герцептин. Это указывает в пользу использования оценки уровня мРНК гена *HER2* в качестве предиктивного маркёра при ДРЖ. Существенный интерес представляет экспрессия нейропептина (*NRP-1*), как вследствие его значения для прогрессии и метастазирования рака, так и высокой частоты повышенной экспрессии, составившей в нашей выборке ДРЖ 37%. Впервые при РЖ обнаружена ко-экспрессия *NRP-1* с *TGF-β*, также связанным с инвазией и метастазированием. Найдённая ко-экспрессия может отражать, в качестве некоторых вероятных механизмов, необходимость ко-рецепторных взаимодействий этих генов, либо связки сигнального пути *TGF-β* с путем *hedgehog* для обеспечения прогрессирования опухоли при ДРЖ. Амплификация гена *FGFR2* недавно была ассоциирована с метастазированием и плохим

прогнозом. Этот ген изучается в качестве терапевтической мишени нового лекарственного средства. Однако частота повышенной экспрессии *FGFR2* составила только 5%, что соответствует изученной в других работах частоте его амплификации при РЖ. Необходимость исследования экспрессии генов *Ki67* и *PCNA* диктует противоречивая информация об их значении в качестве прогностических маркёров при РЖ. Частота их повышенной экспрессии при ДРЖ составила 20% и 10%, соответственно. Интересно, что случаи повышенной экспрессии *PCNA* совпали с повышенной экспрессией *Ki67*.

### Фармакогенетическая оценка эффективности и безопасности применения антипсихотиков на основе параметров дофаминергической нейротрансмиссии

**Кирничная К.А., Иващенко Д.В., Сосин Д.Н., Тараскина А.Е., Иванов М.В., Насырова Р.Ф., Крупицкий Е.М.**

ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский психоневрологический институт им. В.М. Бехтерева» Минздрава России, Санкт-Петербург

Антипсихотики — основные препараты, используемые при лечении психических расстройств. Индивидуальные параметры дофаминергической нейротрансмиссии считаются перспективными биомаркёрами при персонализации антипсихотической терапии. Показано, что полиморфизмы генов рецепторов дофамина *DRD2* и *DRD4*, а также транскрипционных факторов и белков-переносчиков нейромедиатора, ассоциированы с эффективностью и безопасностью антипсихотиков. Но учёт только генетических параметров не считается достаточным для прогноза. Прижизненная фенотипическая оценка качественных и количественных изменений дофаминовых рецепторов под воздействием нейролептиков возможна при помощи лимфоцитов периферической крови. Лимфоцитарные клетки представляют собой удобный объект исследования: упрощённую модель дофаминергического нейрона, они самостоятельно синтезируют дофамин, и содержат на своей поверхности основные классы дофаминовых рецепторов. Экспрессия генов, кодирующих ключевые белки дофаминергической нейротрансмиссии периферических лимфоцитов, коррелирует с экспрессией этих генов в нейронах головного мозга. Таким образом, обмен дофамина в лимфоцитах отражает особенности дофаминергической нейротрансмиссии всего организма. Модель, учитывающая как полиморфизмы генов, так и экспрессию мРНК белков-переносчиков, транскрипционных факторов и рецепторов дофамина, является перспективным инструментом персонализации подбора антипсихотиков.

В рамках нашего исследования планируется разработка биологической лимфоцитарной модели, позволяющей прогнозировать эффективность и безопасность антипсихотической терапии шизофрении на основе индивидуальных фенотипических и генотипических параметров дофаминергической нейротрансмиссии.

Авторы выражают благодарность фонду РНФ (грант №14-15-00904 «Антипсихотические средства: разработка персонализированных подходов к терапии на основе индивидуальных особенностей рецепторной нейротрансмиссии лимфоцитов»), финансирующему проведение данного исследования

### Генетическая гетерогенность среди пациентов с клиническими проявлениями СД22q11.2

**Козлова Ю.О., Забненкова В.В., Антоненко В.Г., Шилова Н.В.**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», Москва, Российская Фе-

дереция  
e-mail: kozlova.julie@gmail.com

Фенотипические особенности, характерные для синдрома делеции 22q11.2 (СД22q11.2), перекрываются со спектрами клинических проявлений других синдромов. В выборке из 140 наблюдений пациентов с наличием манифестирующих признаков СД22q11.2 проведено цитогенетическое исследование GTG-методом. В трёх наблюдениях диагностированы хромосомные aberrации (XA): мозаицизм по половым хромосомам — mos45,X[42]/47,XXX[8]; тетрасомия по хромосоме X — 48,XXXX и частичная трисомия длинного плеча хромосомы 8 в результате сегрегации материнской транслокации — 46,XY,der(4)t(4;8)(q35;q22)mat. Пациентам с нормальным кариотипом, определённым GTG-методом, проведено молекулярно-цитогенетическое исследование с ДНК-зондом TUPLE1/ARSA (Abbott Molecular), что позволило обнаружить делецию 22q11.2 в 43 из 137 наблюдений (31%). На сегодняшний день FISH-метод является самым доступным для идентификации делеции 22q11.2 и применим наиболее часто, однако он не позволяет выявить атипичные делеции и оценить размер делеции. С целью улучшения диагностики СД22q11.2, поиска возможных других XA, которые могли бы обуславливать развитие схожего фенотипа при отсутствии делеции 22q11.2, а также для определения размера выявленной с помощью FISH-анализа делеции в 77 наблюдениях проведена мультиплексная проба-зависимая лигазная реакция с последующей амплификацией (MLPA). Среди этих 77 образцов выявлены случаи как с делецией 22q11.2 (n = 28), так и без неё (n = 49). Среди 28 наблюдений, где делеция подтверждена и измерена методом MLPA, в подавляющем большинстве случаев — в 22 наблюдениях (79%), её размер составлял 3 млн п.н. (локус LRC22-A-B-C). В 4 наблюдениях (14%) делеция затрагивала регион LRC22-A-B и составляла 2 млн п.н., и в единичных случаях (по 3,5%) встретилась делеция размером в 3,5 млн п.н. (локус LRC22-A-B-C-D), и делеция размером в 1,5 млн п.н. (локус LRC22-A). Метод MLPA при использовании набора P250-B1 DiGeorge Syndrome (MRC-Holland) позволяет в одной реакции не только выявить делецию, определить её размер, но и исследовать локусы других хромосом, aberrации в которых способны вызывать сходные с СД22q11.2 клинические проявления. Результаты диагностики делеции 22q11.2 методом MLPA полностью совпали с результатами, полученными при FISH-исследовании, и позволили установить размеры всех выявленных делеций. При дальнейших молекулярных исследованиях пациентов из группы без делеции 22q11.2 и с нормальным кариотипом у двух пациентов выявлен синдром Смит—Магенис и у одного пациента — синдром Алажиа. Полученные результаты свидетельствуют о невозможности точной постановки диагноза СД22q11.2, основанного только на фенотипических проявлениях, характерных для синдрома.

### Характеристика генотипов *CFTR* при частых фенотипах муковисцидоза у детей московской популяции

Кондратьева Е.И., Капранов Н.И., Петрова Н.В., Шерман В.Д., Воронкова А.Ю., Никонова В.С., Шабалова Л.А., Новоселова О.Г.

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва, Россия

Цель: на основании анализа регистра 2012 года больных муковисцидозом (МВ) детей и подростков Московского региона (292 пациента) описать генотипы гена *CFTR* при различных фенотипах заболевания.

Объект исследования — данные пациентов регистра МВ Московского региона (2012 г.), заполненного согласно рекомендациям Европейского регистра (ECFSR). В регистр включено 292 ребенка. Генетическое исследование в ФГБНУ

«МГНЦ» проведено 273 больным, не было проведено 19 детям, что составило 6,5%.

В группе с нормальной функцией поджелудочной железы (фекальная эластаза 1 < 200 мкг/кг) зарегистрировано 42 пациента (21,3%). Самые частые генотипы: F508del/Unknown (32,5%), CFTRdele2,3/Unknown (10%), F508del/3849+10kbC->T (10%), F508del/2789+5G>A (5%), W1282X/3849+10kbC->T (5%), 1677delTA в гомозиготном состоянии (5%). Снижение индекса массы тела ниже 25 перцентильного ряда, было зарегистрировано в 90 случаях (39,47% от числа обследованных). Самые частые генотипы: F508del/F508del (38,8%), F508del/Unknown (12,9%). Назальные полипы выявлены в 41 случае (14%), наиболее частые генотипы больных: F508del/F508del (47,5%), F508del/CFTRdele2,3 (15%), F508del/Unknown (10%). Мекониевый илеус в анамнезе зарегистрирован в 30 случаях (10,3%), частые генотипы: F508del/F508del (43,3%), F508del/Unknown (10%), CFTRdele2,3/Unknown (10%). Цирроз печени выявлен в 24 случаях (8,2%), преобладали генотипы: F508del/F508del (37,5%), F508del/CFTRdele2,3 (12,5%). Синдром псевдо-Бартера был диагностирован в 15 случаях (5,1%) с генотипами: F508del/F508del (15,4%), 1677delTA/1677delTA (15,4%). Наиболее частыми аллеями при хронической инфекции *Pseudomonas aeruginosa* (59 больных — 20,2%) были: F508del — 56, 8%, CFTRdele2,3 — 5,9%, W1282X — 3,4%, 1677delTA — 3,4%, G542X — 2,5%, а у пациентов без хронического носительства *Pseudomonas aeruginosa* (224 пациента, 76,7%) — F508del — 83,5%, CFTRdele2,3 — 13,9%, W1282X — 2,4%, 1677delTA — 1,4%, G542X — 1,4%. *Burkholderia ceracia* выделялась в 9 случаях (3,0%), наиболее частый генотип: F508del/F508del — 77,8%. *Stenotrophomonas maltophilia* выделена в 14 случаях (4,8%). Наиболее частые генотипы: F508del/F508del (27,2%), F508del/W1282X (27,2%). Неферментирующая грамм-отрицательная флора была обнаружена в 20 случаях (6,8%), генотипы: F508del/F508del (44,4%), CFTRdele2,3/Unknown (13,3%).

Выявлены особенности генотип-фенотип для популяции московского региона.

### Молекулярно-генетический анализ целиакии в Республике Саха (Якутия) на основе типирования генов HLA II класса — *DRB1*, *DQA1*, *DQB1*

Куртанов Х.А.<sup>1</sup>, Данилова А.Л.<sup>1</sup>, Герасимова В.В.<sup>2</sup>, Максимова Н.Р.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГУ ЯНЦ КМП ФАНО, г.Якутск, hariton\_kurtanov@mail.ru

<sup>2</sup> ФГАОУ ВПО СВФУ им. М.К. Аммосова, г.Якутск

Целиакия — это генетически детерминированная, аутоиммунная энтеропатия индуцированная глютенем, белковой частью злаковых. Она приводит к хроническому воспалению тонкой кишки, атрофии ворсин, с частым развитием синдрома мальабсорбции и постепенным вовлечением в патологический процесс многих органов и систем. Одна из причин развития заболевания связана с наличием генов *HLA-DQ2* (*A1\*0501* и *B1\*0201*), которые выявляют у 90—95% больных и *HLA-DQ-8* (*A1\*03* и *B1\*0302*), которые выявляют у 5—10% больных. Но наличие этих генов не обязательно приводит к развитию целиакии; имеет место наличие не-HLA генов, участвующих в формировании предрасположенности к целиакии [Louka, Sollid, 2003; Ludvig et al., 2005]. Целью работы являлся молекулярно-генетический анализ гаплотипического разнообразия целиакии на основе типирования генов HLA класса II (*DRB1*, *DQA1*, *DQB1*). Было исследовано 37 пациентов с направительным диагнозом целиакия или с подозрением на целиакию в возрасте от 8 месяцев до 18 лет. Выделение ДНК проводилось с помощью набора для выделения ДНК Extra — Gene I, прототипирование генов *DRB1*, *DQA1* и *DQB1* — набором для типирования HLA аллелей HISTO TYPE SSP (BAG Health Care GmbH, Германия).



В результате генотипирования у 17 были обнаружены гаплотипы, ассоциированные с целиакией. DQ2 тип представлен 3 гаплотипами, а DQ8 тип 1 гаплотипом. Обнаружена высокая частота носительства гаплотипа *DRB1\*04 — DQA1\*03:01 — DQB1\*03:02* (DQ8 тип) у якутов (31,1%) по сравнению с русскими (11,6%) и с ранее проводившимися исследованиями (5—10%). Трое больных (якуты — 2 чел., русские — 1 чел.) являются носителями сразу двух гаплотипов ассоциированных с целиакией. Первый человек (якут) имеет гаплотипы *DRB1\*04 — DQA1\*03:01 — DQB1\*03:02* и *DRB1\*07 — DQA1\*02:01 — DQB1\*02:02*, относящиеся к DQ8 типу и DQ2 типу, соответственно. Второй человек (якут) — *DRB1\*03 — DQA1\*05:01 — DQB1\*02:01* и *DRB1\*07 — DQA1\*02:01 — DQB1\*02:02* (оба гаплотипа DQ2 тип), а третий (русский) — *DRB1\*04 — DQA1\*03:01 — DQB1\*03:02* и *DRB1\*03 — DQA1\*05:01 — DQB1\*02:01* (DQ8 тип и DQ2 тип соответственно). Последний больной, имеющий сразу два гаплотипа DQ8 и DQ2 тип, имеет очень высокий риск целиакии.

Таким образом, требуется дальнейшее популяционно-генетического исследования по генам HLA (II класс) *DRB1 — DQA1 — DQB1*.

### Сцепление мутации *F508del* гена *CFTR* с 9T-аллелем интрона 8 и микросателлитными маркерами

*Маркова Е.В., Татару Д.А., Преда О.Г., Светлаков А.В.*

ООО «Красноярский центр репродуктивной медицины», 660037, г. Красноярск, ул. Коломенская, 26; [genlab@artmedgroup.ru](mailto:genlab@artmedgroup.ru)

Мутация *F508del* является самой частой мутацией гена *CFTR* и основной причиной муковисцидоза (МВ) во всех популяциях. Исследование внутри- и внегенных полиморфных маркеров МВ выявляет сцепление *F508del* с отдельными аллелями (интронов 6 и 8) и ассоциацию с определенным гаплотипом (Ивашенко, Баранов, 2002). Преимплантационная диагностика МВ требует расширенной панели информативных полиморфных маркеров и может выявить дополнительные сведения о структуре генетического локуса с мутацией *F508del*.

Целью исследования был анализ полиТ-полиморфизма интрона 8 у лиц с мутацией *F508del* и анализ микросателлитных маркеров *F508del*-несущих хромосом.

Анализ мутации *F508del* и полиТ-полиморфизма интрона 8 гена *CFTR* был выполнен на образцах ДНК 1807 лиц, проходивших обследование в Красноярском центре в отношении мутаций гена *CFTR* или косвенных маркеров МВ; STR-гаплотипирование — на образцах ДНК 15 ядерных семей с МВ. Молекулярно-генетические исследования проводились методом ПЦР с детекцией размеров фрагментов методом капиллярного электрофореза на генетическом анализаторе.

Распределение генотипов по полиТ-полиморфизму интрона 8 среди обследованных лиц без мутации *F508del* (N = 1684) не отличалось от распределения Харди—Вайнберга и достоверно отличалось от генотипов с мутацией *F508del* ( $p < 0,001$ ). Так, 9T *IVS8* присутствовал в 100% генотипов, несущих *F508del*: в гомозиготном состоянии у гомозигот по мутации (N = 13) и в гетерозиготном состоянии у носителей (N = 68). Гаплотипирование показало, что все *F508del*-хромосомы (N = 20) в сравнении с нормальными хромосомами (N = 46) имели один и тот же гаплотип по 9T-аллелю *IVS8*, микросателлитам *IVS1n/IVS6* и неравновесность по сцеплению с определенными аллелями *D7S677*, *IVS8(GT)* и *IVS17(CA)*. Внегенные STR-маркеры, локализованные на расстоянии 1,2—1,5 млн п.н., были более вариабельны. Таким образом, лица с мутацией *F508del* имеют ожидаемый генотип в отношении ряда полиморфных микросателлитных маркеров, что может быть полезно для проведения дородовой диагностики МВ и дальнейших исследований *CFTR*-локуса.

### Полиморфизм генов *IL10*, *NQO1* и *MDM2* у больных хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ)

*Овсепян В.А., Шубенкина А.А., Зотина Е.Н.*

ФГБУН «Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА», г. Киров, 610027, ул. Красноармейская, 72, [vovsepyan@mail.ru](mailto:vovsepyan@mail.ru)

Целью настоящего исследования было изучение возможной ассоциации полиморфных вариантов генов интерлейкина 10 (*IL10*, *rs1800896*,  $-1082G>A$ ), NAD(P)H: хинооксида-редуктазы 1 (*NQO1*, *rs1800566*,  $609C>T$ ) и онкобелка mdm2 (от англ. murine double minute 2 gene — *MDM2*, *rs2279744*,  $309T>G$ ) с риском развитием ХЛЛ и со стадиями заболевания в момент постановки диагноза среди жителей Вятского региона русской этнической принадлежности.

В исследование была включена геномная ДНК 231 этнически русского больного ХЛЛ в возрасте от 33 до 83 лет (медиана возраста — 63 года) и с соотношением мужчин и женщин в момент постановки диагноза, равным 1,47:1. Диагноз ХЛЛ устанавливался на основании стандартных гематологических и иммунологических критериев. Стадирование болезни у пациентов проводилось согласно стратификационной системе Vinet J.L., включающей стадию А (113 больных), стадию В (88 больных) и стадию С (30 больных). При проведении ассоциативного анализа стадии В и С объединены в отдельную группу. Геномную ДНК выделяли из цельной крови больных посредством стандартной фенольно-хлороформной экстракции. Исследование однонуклеотидных полиморфизмов  $-1082G>A$ ,  $609C>T$  и  $309T>G$  соответственно генов *IL10*, *NQO1* и *MDM2* проводили методом аллель-специфической ПЦР. Контрольную группу составили образцы ДНК крови 314 здоровых неродственных жителей г. Кирова и Кировской области, сопоставимых по полу, возрасту и этнической принадлежности с исследуемой группой.

Обнаружена ассоциация аллеля  $-1082A$  и  $-1082A$ -генотипов ( $-1082AA/-1082AG$ ) гена *IL10* с риском развития ХЛЛ (OR = 1,39, 95%CI = 1,09—1,78 и OR = 1,66, 95%CI = 1,09—2,54, соответственно). Кроме того, выявлено, что генотип  $-1082AA$  по сравнению с носителями  $-1082G$ -генотипов ( $-1082AG/-1082GG$ ) повышает риск манифестации заболевания на поздних стадиях в момент постановки диагноза (OR = 1,89, 95% CI = 1,10—3,26). В то же время не было выявлено статистически достоверных различий в распределении полиморфных вариантов генов *NQO1* и *MDM2* между больными и здоровыми лицами, а также между группами пациентов, различающихся по стадиям.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлена возможная ассоциация полиморфизма гена *IL10* с патогенезом ХЛЛ.

### Особенности распространённости мутации *F508del* в гене *CFTR* у больных Российской Федерации

*Петрова Н.В.<sup>1</sup>, Капранов Н.И.<sup>1</sup>, Красовский С.А.<sup>2</sup>, Черняк А.В.<sup>2</sup>, Кондратьева Е.И.<sup>1</sup>, Амелина Е.Л.<sup>2</sup>, Каширская Н.Ю.<sup>1</sup>, Никонова В.С.<sup>1</sup>, Шерман В.Д.<sup>1,3</sup>, Воронкова А.Ю.<sup>1</sup>, Шабалова Л.А.<sup>1</sup>, Протасова Т.А.<sup>3</sup>, Назаренко Л.П.<sup>3</sup>, Романенко Н.И.<sup>3</sup>, Ашерова И.К.<sup>3</sup>, Хачиян М.М.<sup>3</sup>, Брисин В.Ю.<sup>3</sup>, Голубцова О.И.<sup>3</sup>, Ильенкова Н.А.<sup>3</sup>, Сафонова Т.И.<sup>3</sup>, Бойцова Е.В.<sup>3</sup>, Успенская И.Д.<sup>3</sup>, Мерзлова Н.Б.<sup>3</sup>, Сергиенко Д.Ф.<sup>3</sup>, Скачкова М.А.<sup>3</sup>, Васильева Т.Г.<sup>3</sup>, Воронин С.В.<sup>3</sup>, Козырева Л.С.<sup>3</sup>, Байкова Г.В.<sup>3</sup>, Горинова Ю.В.<sup>3</sup>*

<sup>1</sup> ФГБУ «Медико-генетический научный центр», Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> НИИ пульмонологии ФМБА, Москва, Российская Федерация

<sup>3</sup> Центры муковисцидоза, Российская Федерация

Наиболее распространённой среди больных муковисцидозом (МВ) является мутация *F508del*, обнаруживаемая в более 65% всех аллелей гена *CFTR* у больных. Частота МВ значительно варьирует в зависимости от этнической принадлежности и/или географической зоны и колеблется от 1:600 (Бретань, Франция) до 1 : 400 000 (страны Юго-Восточной Азии). По данным регистров Европы распространённость мутации *F508del* снижается с северо-востока к юго-западу

Цель: определить распространённость мутации *F508del* гена *CFTR* в регионах Российской Федерации.

Проведено генетическое обследование у 942 больных (91,8% от общего числа) из 1 026 пациентов с МВ из 16 регионов — субъектов Российской Федерации и г.Новосибирска (по данным национального регистра РФ, 2011 г.).

Общая суммарная частота идентифицированных аллелей составила 80,0%; в 20,0% случаев патологический аллель выявить не удалось. Общая аллельная частота мутации *F508del* изучаемых регионов РФ составила 52,79% и значительно различалась в регионах. В Пермском крае аллельная частота *F508del* была самой низкой — 30,21%, в Ленинградской области и Красноярском крае — по 71,05%, Астраханской области — 68,75%. В самом крупном регионе — Москве и области (центральный регион) она составила 52,18%. В 6 регионах аллельная частота мутации *F508del* составляет более 60%, в 3 субъектах РФ — менее 40% (Пермский край — 30, 21%, Приморский край — 37,18%, Республика Чувашия — 31,94%). Полученные результаты обусловлены большим разнообразием популяций, проживающих в РФ и, возможно, географическими особенностями.

Аллельная частота мутации *F508del* гена *CFTR* в регионах значительно отличается, с тенденцией к понижению на восток и увеличению на юг.

### Идентификация генетической причины X-сцепленной не прогрессирующей наследственной мозжечковой атаксии с использованием полногеномного секвенирования

*Протасова М.С.<sup>1,2</sup>, Григоренко А.П.<sup>1,2</sup>, Тяжелова Т.В.<sup>2</sup>, Гусев Ф.Е.<sup>1,2</sup>, Андреева Т.В.<sup>1,2</sup>, Решетов Д.А.<sup>1,2</sup>, Кузнецова И.Л.<sup>2</sup>, Ключников С.А.<sup>4</sup>, Иллариошкин С.Н.<sup>4</sup>, Рогов Е.И.<sup>1,2,3</sup>*

<sup>1</sup> Центр нейробиологии и нейрогенетики, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук

<sup>3</sup> Медицинская школа Массачусетского Университета, Вустер, США

<sup>4</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр неврологии» Российской академии медицинских наук, Москва, Россия

X-сцепленная не прогрессирующая наследственная мозжечковая атаксия — гетерогенное заболевание, обусловленное гипоплазией мозжечка, встречающееся преимущественно у мужчин и характеризующееся задержкой моторного развития и нарушением координации движений. Мы провели генетический анализ 13 индивидуумов из большой родословной из Бурятии, ранее описанной группой С.Н. Иллариошкина. В результате полногеномного секвенирования на приборе Illumina HiSeq 2000 ДНК пациента из бурятской родословной и последующего биоинформатического анализа однонуклеотидных и структурных полиморфных вариантов на X-хромосоме была обнаружена мутация, ведущая к замене Gly682Ser в эволюционно-консервативном сайте гена *ABCB7*, участвующего во включении железа в гем. Также была выявлена делеция 41,4 т.п.н., затрагивающая участок X-хромосомы, кодирующий первый металл-связывающий домен в гене транспортера меди *ATP7A*. Обе мутации были

подтверждены у всех обследованных пациентов и отсутствовали у здоровых мужчин из Бурятской семьи. Полученные результаты свидетельствуют о том, что генетический дефект в гене *ABCB7* гена является причиной мозжечковой патологии в бурятской родословной и подтверждают генетическую гетерогенность данной патологии. Роль структурного варианта в гене *ATP7A* и редких генетических вариантов в генах, имеющих модификационный эффект, обсуждается в контексте феномена клинической вариабельности моногенных заболеваний.

Данная работа была поддержана Правительством Российской Федерации (№14.В25.31.0033).

### Первые результаты работы цитогенетической лаборатории в Городском гематологическом центре г.Новосибирска

*Таирова С.А., Поспелова Т.И., Нечунаева И.Н., Лямкина А.С., Ковынев И.Б., Мельниченко Е.В., Федь С.С.*

ГБУЗ НСО Городская клиническая больница №2, Новосибирск  
ГБОУ ВПО Новосибирский Государственный медицинский университет МЗ РФ

Новосибирск, 630051, ул. Ползунова, 21; [tairova.sofia@yandex.ru](mailto:tairova.sofia@yandex.ru)

Проведение цитогенетической диагностики и мониторинга на современном этапе необходимо всем пациентам гематологической клиники. В 2013 г. впервые в регионе на базе бюджетного учреждения здравоохранения Городской клинической больницы №2 создана цитогенетическая лаборатория, специализирующаяся на исследованиях для онкогематологии. Внедрены и успешно выполняются цитогенетические исследования для пациентов с опухолевыми заболеваниями крови, в том числе, с использованием В-митогенов (для диагностики лимфопролиферативных заболеваний). Исследования проводятся в рамках территориальной программы государственных гарантий бесплатного оказания гражданам медицинской помощи в Новосибирской области. Ведётся работа по внедрению молекулярно-цитогенетических исследований (FISH).

За год работы выполнено 155 цитогенетических исследований. Из них для пациентов с диагнозом острый лейкоз — 20, с апластической анемией — 5, с миелодиспластическим синдромом (МДС) — 11, с миелолифферативными заболеваниями (ЛПЗ) — 107, с лимфопролиферативными заболеваниями (ЛПЗ) — 12. Накапливается опыт выявления хромосомных aberrаций при различных видах гемобластозов. При острых лейкозах выявлены изменения в 65% случаев, при апластической анемии — в 20%, при МДС — в 63,6%, при ЛПЗ — в 35,5%, при ЛПЗ — в 58,3%. Не получен кариотип в двух случаях (при апластической анемии и первичном миелофиброзе). Первично с подозрением на ЛПЗ было направлено 22 пациента, Ph-позитивный клон выявлен у 14 (63,6%) больных, что позволило поставить им диагноз хронический миелолейкоз (ХМЛ). Немаловажную роль цитогенетическое исследование играет у больных ХМЛ при оценке эффективности лечения, что позволяет корректировать в дальнейшем терапию у пациентов. Так, из 56 чел., состоящих в регистре больных ХМЛ, находившихся в хронической стадии, Ph-позитивный клон обнаружен у 12 пациентов (21,4%), что послужило поводом для коррекции дозы препарата; а у 4 больных в стадии акселерации и бластного криза Ph-позитивный клон определялся в 100% случаев, что потребовало изменения тактики ведения пациентов. Дополнительные хромосомные перестройки (дополнительная Ph-хромосома, изохромосома 17, сверхчисленные хромосомы 8 и 19, транслокации t(1;2)(p34;p11), t(7;11)(q22;p15)) обнаружены у одного первичного пациента, у двух пациентов в хронической стадии, у одного пациента в стадии акселерации и у одного в стадии бластного криза. У одного больного в хронической фазе ХМЛ — вариантная транслокация t(1;9;22)(q21;q34;q11). Необходимо дальнейшее обеспечение проведения цитогенети-

ческой диагностики пациентам с онкогематологическими заболеваниями, а также развитие FISH-исследования с расширением спектра используемых ДНК-зондов.

### Поиск маркёров генетической предрасположенности к остеоартриту у женщин с фенотипическими признаками дисплазии соединительной ткани

Тюрин А.В.<sup>1,2</sup>, Хусаинова Р.И.<sup>1</sup>,  
Давлетшин Р.А.<sup>2</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Российская Федерация, 450000 Уфа, просп. Октября, 71, Anton.bgmu@gmail.com

<sup>2</sup> ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российская Федерация, 450000 Уфа, ул. Ленина, 3

Проведено изучение полиморфных вариантов rs2228570 (с.2T/A/C/G, Met1Lys/Arg/Thr; FokI, rs10735810), rs1544410 (с.1024+283G>A; BsmI), rs7975232 (с.1025-49G>T, ApaI), rs731236 (с.1056T>C, TaqI) гена рецептора витамина Д (VDR), rs63118460 (rs7963636, с.1528-108A>G), rs2276455 (27149C>T) гена COL2A1, rs1799750 (3471delG) гена MMP1, rs2252070 (4925G>A) гена MMP13 у женщин, страдающих остеоартритом (ОА) и имеющих признаки дисплазии соединительной ткани (ДСТ), в том числе гипермобильность суставов (ГМС). Материалом для исследования послужили образцы ДНК 255 женщин в возрасте от 23 до 61 года, средний возраст 51,4 ± 2,2 года. ОА диагностировался на основании критериев Американской ассоциации ревматологов (1995). Наличие ДСТ оценивали клинически, с помощью фенотипической таблицы Т.И. Кадруиной. ГМС определялась с помощью критериев Бейтона.

Обнаружена значимость полиморфных вариантов rs1544410 (с.1024+283G>A; BsmI) и rs7975232 (с.1025-49G>T, ApaI) гена VDR в развитии как ОА и ДСТ отдельно, так и при сочетании данных патологических состояний. Наибольший вклад в увеличение риска развития ОА и ДСТ вносит аллель \*G и генотип \*G\*G локуса BsmI. Генотип \*A\*A локуса BsmI является маркёром пониженного риска развития ДСТ. Генотип \*G\*T локуса ApaI увеличивает риск развития ОА с признаками ДСТ. Генотип \*T\*T локуса ApaI является маркёром пониженного риска развития ДСТ в целом, а также развития сочетанной патологии. Гаплотип \*CGG локусов BsmI, ApaI, TaqI ассоциирован с повышенным риском развития дисплазии соединительной ткани, гаплотип \*CTA снижает риск развития сочетанной патологии. Обнаружена ассоциация аллеля \*IG и его гомозиготного генотипа \*IG\*IG полиморфного варианта rs1799750 гена MMP1 с развитием ГМС, сочетанной с ОА, аллеля \*2G — с развитием изолированной ГМС. Аллель \*A и генотип \*A\*A полиморфного варианта rs2252070 гена MMP13 являются маркёрами повышенного риска развития изолированной ГМС. Аллель \*C и генотип \*C\*C полиморфного варианта rs63118460 гена COL2A1 оказывают негативное влияние на связочный аппарат у больных с ОА и ассоциированы с риском развития ГМС, в то время как полиморфный вариант rs2276455 гена COL2A1 не играет существенной роли в развитии патологии связочного аппарата и хряща.

### Итоги мониторинга врождённых пороков развития в Курской области

Тюрин Г.Л., Кононенко Н.И., Вялых Е.К.,  
Кудрявцева О.К., Кононова М.В., Ржевкина Н.Н.

БМУ «КОКБ» медико-генетическая консультация,  
г. Курск, ул. Сумская д. 45 А, okb5@kurskokb.ru.

С 1999 г. в медико-генетической консультации г. Курска проводится мониторинг распространения врожденных пороков развития (ВПР) с определением базовых частот регистрируемых аномалий плодов и новорожденных.

В течение 14 лет зарегистрировано 2319 врожденных пороков развития с максимальным количеством нозологических форм в 2013 г. — 253 случая, с минимальным — 112 случаев в 2001 г. Это можно объяснить использованием высокоразрешающих методов ультразвуковой диагностики с применением программ скрининга беременных на хромосомную патологию плода.

Частота ВПР за данный период колебалась от 10,4‰ (2001 г.) до 19,8‰ (2013 г.); по РФ колебания ВПР от 12,9‰ до 23,6‰ (таблица).

#### Частота ВПР среди новорожденных и плодов в Курской области

Год	Курская область	РФ
2004	14,5	12,98
2005	13,1	16,76
2006	14,2	16,97
2007	12,0	18,73
2008	14,7	19,43
2009	12,6	21,72
2010	13,2	23,28
2011	13,5	21,66
2012	14,8	22,19
2013	19,8	23,66

Наибольший удельный вес в структуре пороков на протяжении проводимого мониторинга составляют врожденные пороки сердца — 401; дефекты нервной трубки — 346; пороки костно-мышечной системы — 324 случаев.

Изучение структуры ВПР на территориях прилегающих к Курчатовской атомной электростанции и месторождениям Курской магнитной аномалии (КМА) не выявило повышения частот ВПР по регистрируемым нозологическим формам.

При сравнении частот врожденных пороков по нозологическим формам с данными Российского регистра отмечены более высокие показатели следующих пороков: анэнцефалия, энцефалоцеле, расщелина губы и неба, гастрошизис. Данный факт можно объяснить высоким охватом беременных области ранним пренатальным скринингом (86%).

Необходимо продолжать исследования, так как мониторинг ВПР является единственным средством контроля врожденных дефектов на уровне популяции.

### Использование системы поддержки принятия решений в практике преподавания медицинской генетики

Угаров И.В., Ильяшенко Л.Д., Акуленко Л.В.

ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» МЗ РФ, iugarov@yandex.ru

Преподавание медицинской генетики в ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» МЗ РФ для специальности 060101 — «Лечебное дело» предусматривает очную и очно-заочную формы обучения в VI семестре на дневном и VIII семестре на вечернем факультетах. Трудоемкость дисциплины составляет 1,5 зачетных единиц: аудиторные занятия — 36 часов (лекции — 12 часов, практические занятия — 24 часа) и самостоятельную работу — 18 часов. Тематический план включает в себя следующие разделы:

1. Наследственность и патология;
2. Общая семиотика наследственной патологии;
3. Клинические и параклинические методы диагностики наследственной патологии;
4. Хромосомные, моногенные и многофакторные болезни;



5. Основы профилактики наследственных болезней;
6. Принципы оказания медико-генетической помощи населению.

Учебные часы распределяются по каждому разделу с указанием форм текущего контроля. Завершение обучения предусматривает сдачу зачета по итогам промежуточного контроля, который включает тестовые задачи и решение клинических ситуационных задач по каждой теме.

Определенные трудности представляет собой преподавание 4 раздела, особенно части, касающейся моногенных болезней. Для обучения быстрой дифференциальной диагностике и подтверждению окончательного диагноза мы в качестве эксперимента попробовали использовать на практических занятиях комплекс систем поддержки принятия решений (СППР). Комплекс xGen IDS 1.0 включает в себя набор программ, каждая из которых обладает следующими функциями:

- 1) каталоги классов и заболеваний;
- 2) справочный материал;
- 3) просмотр описаний, иллюстративного материала и диагностических критериев заболеваний;
- 4) анализ признаков и вывод ранжированного списка заболеваний;
- 5) виртуальный советник, способствующий принятию решения в случае трудностей при постановке диагноза или при недостатке опыта.

Как показал опыт, использование СППР позволяет систематизировать теоретические знания студентов, оптимизировать процесс дифференциальной диагностики моногенных синдромов, а главное — существенно упростить доступ к необходимой для этого информации, что важно при значительном дефиците учебных часов.

### Полиморфизмы гена *TP53* (rs1042522, rs17878362) и аллельный дисбаланс локуса 17p13.1 в качестве факторов прогноза эффективности лечения у больных раком желудка

Удилова А.А.<sup>1</sup>, Залетаев Д.В.<sup>1,2</sup>,  
Хоробрых Т.В.<sup>1</sup>, Немцова М.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия  
<sup>2</sup> ФГБУ «МНЦ РАМН», Москва, Россия

Цель — поиск индивидуальных прогностических факторов, ассоциированных с оценкой клинического течения и эффективности адъювантной химиотерапии у больных местно-распространённым раком желудка.

Исследовали 80 больных местно-распространённым раком желудка, которым проведено комбинированное лечение: радикальное хирургическое лечение по поводу рака желудка, в послеоперационном периоде адъювантная химиотерапия с 5-фторурацил или кселодой. Медиана наблюдения за больными составила 33 месяца. У всех больных исследовали полиморфизмы гена *TP53*: замена Arg > Pro в 72 кодоне гена (rs1042522) и инсерция 16 нуклеотидов в 3 интроне (rs17878362). В операционных образцах исследовали аллельный дисбаланс локуса 17p13.1 (*TP53*). Определение аллельного дисбаланса гена *TP53* в опухолевом материале проводилось методом микросателлитного анализа по трем маркерам: пентануклеотидный повтор, расположенный в 1 интроне этого гена, тетрапентануклеотидный повтор в промоторном районе гена, также D17S1353.

При исследовании rs1042522 выявлено, что генотип Pro/Pro достоверно чаще определяется в группе пациентов, у которых в течение первых 3 лет после операции на фоне адъювантной химиотерапии возник рецидив опухоли ( $p = 0,031$ ). Достоверных ассоциаций при генотипировании по rs17878362 не получено. При исследовании аллельного дисбаланса локуса 17p13.1 (*TP53*) выявлено, что в группе с отсутствием рецидива заболевания в течение первых 3 лет после операции, делеция гена *TP53* в опухоли встречались достоверно чаще ( $p = 0,024$ ). Кро-

ме того, делеции локуса 17p13.3 достоверно чаще определяются в опухолях интестинального типа РЖ по сравнению с диффузным типом ( $p = 0,038$ ).

Генотипирование больных по полиморфизму rs1042522 гена *TP53* можно использовать в качестве составляющей в системе маркеров для персонального подбора схем химиотерапии у больных раком желудка и оценки эффективности адъювантного лечения больных местно-распространённым раком желудка. Аллельный дисбаланс локуса 17p13.1, в котором расположен ген *TP53*, является фактором благоприятного прогноза при РЖ и может быть использован для дополнения системы клинических маркеров.

### Биобанки как основа для создания референсных баз ДНК-идентификации в судебно-медицинской экспертизе

Утевская О.М., Атраментова Л.А.

Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина  
Украина, 61022, Харьков, пл. Свободы, 4  
outevsk@yandex.ua

Основным предназначением банка ДНК украинских образцов, созданного нами в 2002—2010 гг. и содержащего более 1200 образцов из 13 областных популяций, было использование данных по полиморфизму различных ДНК-маркеров для генеографического анализа коренного населения Украины. При создании биобанка также учитывалась необходимость прикладных исследований для целей судебно-медицинской экспертизы. Для решения этих задач выборки, представляющие все основные регионы Украины, были генотипированы по аутосомным микросателлитным маркерам (19 маркеров мультиплексной системы COI DIS Plus), предназначенным для ДНК-идентификации.

Также нами была исследована возможность применения микросателлитных маркеров Y-хромосомы (17 STR локусов стандартного набора Y-filer) не только для определения этногеографического происхождения индивида, но и для ДНК-идентификации в судебно-медицинской экспертизе.

Были оценены ряд показателей, определяющих надёжность ДНК-идентификации. Среди 1151 индивидуальных STR-профилей было выявлено 1029 гаплотипов, из которых 943 оказались уникальными, остальные 86 встречались от 2 до 6 раз. Общее гаплотипическое разнообразие *HD* составило 0,998855, вероятность совпадения гаплотипов у двух случайно взятых из популяции неродственных мужчин (*1-HD*) равна 0,001145. Определены наиболее и наименее вариабельные локусы. Для каждого локуса выявлен спектр аллелей, составлены профили аллельных частот, определены преобладающие аллельные варианты. Выяснено, что вероятность идентификации значительно варьирует в зависимости от индивидуального набора аллелей в гаплотипе. Показано, что профили аллельных частот в изученных локусах не имеют значимых региональных различий, поэтому общая референсная база данных может использоваться на всей территории Украины.

### Проявление гендерных различий в ассоциации полиморфизма S311C гена *PON2* с предрасположенностью к ИБС у русских жителей Центральной России

Федосова А.А., Барт И.И., Иванова Н.В., Иванов В.П.,  
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: faa\_24@list.ru

Оксидативный стресс играет важную роль в патогенезе ишемической болезни сердца (ИБС). Окисление липопротеи-

нов низкой плотности способствует развитию дисфункции эндотелия, активации моноцитов, пролиферации гладкомышечных клеток и образованию пенных клеток. Параоксоназа 2 (PON2) — мощный антиоксидантный фермент, который существенно влияет на перекисное окисление липидов. Наиболее функционально значимый полиморфизм S311C (rs6954345) в гене *PON2* приводит к замене серина на цистеин в 311 положении белка. Целью настоящего исследования стало изучение ассоциации полиморфизма S311C гена *PON2* с риском развития ИБС в популяции русских жителей Центральной России. Материалом для исследования послужила выборка 549 больных ИБС (345 мужчин, 204 женщины, средний возраст  $62,11 \pm 8,64$  года) и 402 относительно здоровых индивидов без сердечно-сосудистых заболеваний в анамнезе (232 мужчины, 170 женщин, средний возраст  $62,63 \pm 7,86$  года). Генотипирование проводили путем дискриминации аллелей с помощью TaqMan-зондов. Распределение частот аллелей и генотипов в обеих группах соответствовало равновесию Харди—Вайнберга. Частота вариантного аллеля 311C в группе больных ИБС была выше (0,291) по сравнению с контролем (0,241): OR = 1,29, 95%CI = 1,05—1,58,  $p = 0,02$ . При этом носительство гомозиготного генотипа 311SS обладало протективным эффектом относительно риска развития заболевания: частота данного генотипа составила 51,4% у больных ИБС и 59,2% в контрольной группе (OR = 0,73, 95%CI = 0,56—0,94,  $p = 0,02$ ). В то же время у больных ИБС наблюдалось относительное преобладание гетерозигот 311SC (39,2%) по сравнению с контролем (33,3%): OR = 1,29, 95%CI = 0,98—1,68,  $p = 0,07$ . Стратифицированный по полу анализ у женщин различий в частотах аллелей и генотипов не выявил, однако, у больных ИБС мужчин частота аллеля 311C была выше (0,304), чем у здоровых (0,233): OR = 1,44, 95%CI = 1,10—1,89,  $p = 0,01$ . Частота гомозигот 311SS у мужчин с ИБС была ниже (50,7%), чем в контрольной группе (60,3%): OR = 0,68, 95%CI = 0,48—0,95,  $p = 0,02$ . При этом у больных мужчин частота гомозигот 311CC была относительно выше (11,6%), чем в контроле (6,9%): OR = 1,77, 95%CI = 0,97—3,24,  $p = 0,06$ . Таким образом, полиморфизм S311C гена *PON2* ассоциирован с развитием ИБС только у мужчин.

### Клинический полиморфизм и большая распространённость дисферлинопатии в семьях Горного Дагестана

*Федотов В.П.<sup>1</sup>, Рыжкова О.П.<sup>3</sup>, Умаханова З.Р.<sup>2</sup>, Деев Р.В., Поляков А.В.<sup>3</sup>*

<sup>1</sup> БУЗ ВО «Воронежская областная клиническая больница №1» г. Воронеж, fed\_val@list.ru

<sup>2</sup> Кафедра неврологии ФПК и ППС Дагестанской государственной медицинской академии г. Махачкала, Россия

<sup>3</sup> ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Москва, Россия

Редкий вариант пояснично-конечностной мышечной дистрофии (ПКМД) 2В тип (OMIM 253601) со специфическим паттерном клинического течения, вызывается мутациями в гене *DYSF* (дисферлинопатии) с частотой 1:200000.

В составе научной экспедиции в Ботлихский район горного Дагестана нами исследованы 27 пациентов с миопатическим синдромом с использованием клинико-генеалогического анализа, неврологического осмотра, определения уровня КФК крови, ЭНМГ и МРТ мышц. Проведён ДНК-анализ мутаций в гене *DYSF*.

Прямым секвенированием образцов ДНК у 11 больных (9 мужчин и 2 женщины) из 7 неродственных семей с выраженными признаками ПКМД и клинически здоровыми родителями была установлена одна и та же мутация в экзоне 3 гена дисферлина (*DYSF* с.573-574TG>AT, в гомозиготном состоянии с заменой p.Val67Asp. Распространённость ПКМД 2В составила 1:416 в горном Дагестане. Расчётная частота гетерозигот составляет 1/10. Высокая частота данной уникальной мутации в Дагестане может

указывать на эффект родоначальника. Средний возраст обследования больных составил 35,0 лет (22—62 года).

Средний возраст дебюта симптомов приходится на подростковый период и составляет 17,9 года (15—19 лет). У всех больных заболевание манифестировало с поражения мышц ног, нарушения походки: у 7 из 11 больных с затруднения стоять и ходить на носках, у 4 со слабости мышц тазобедренного пояса. В последующем в интервале от 7 до 10 лет вовлекались мышцы предплечий, а затем проксимальных сегментов плечевого пояса. С возрастом формировался «восходящий» тип парезов и атрофий, дополняя дистальную миопатию Миоши проявлениями ПКМД2В при прогрессировании процесса. Во всех возрастных группах интактными были краниальные и шейные мышцы.

У всех больных отмечен высокий уровень КФК в сыворотке 2000—11 800 Е/л, который имел обратную корреляцию с возрастом больного и длительностью заболевания. При игольчатой ЭМГ установлен «миопатический» паттерн, с нормальными СРВ нервов рук и ног. При МРТ мышц ног двух больных в возрасте 28 и 30 лет с ПКМД 2В установлены атрофические изменения в медиальных головках икроножных мышц с замещением жировой клетчаткой, в меньшей степени передних большеберцовых и задней группы мышц бедер.

Установлены фено-генотипические корреляции у больных с уникальной мутацией в гене дисферлина и эффект родоначальника в горном Дагестане.

### Универсальная роль гена *C9ORF72* в развитии нейродегенеративных заболеваний

*Федотова Е.Ю., Абрамчычева Н.Ю., Степанова М.С., Лысогогорская Е.В., Иллариошкин С.Н.*

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

Патологическая экспансия гексануклеотидных GGGGCC-повторов в 1-м интроне гена *C9orf72* может приводить к развитию таких заболеваний, как лобно-височная деменция и боковой амиотрофический склероз (БАС). По некоторым данным, «промежуточное» число копий повторов (20—30) в данном гене может встречаться у пациентов с паркинсонизмом.

Для уточнения роли экспансии повторов *C9orf72* в развитии различных форм нейродегенераций были обследованы: 237 пациентов с БАС, 175 с болезнью Паркинсона (БП), 54 с атипичным паркинсонизмом (АП) — мультисистемной атрофией, прогрессирующим надъядерным параличом, кортикобазальным синдромом и деменцией с тельцами Леви. В качестве контроля обследованы 224 неврологически здоровых индивидуума. Скрининг GGGGCC-повторов в гене *C9orf72* проводили в два этапа. Сначала методом анализа длин фрагментов на генетическом анализаторе ABI Prism 3130 с помощью программного обеспечения Gene Mapper v.4.0 (Applied Biosystems) анализировали ампликоны, содержащие область повторов. На втором этапе для всех образцов ДНК с одним электрофоретически определяемым аллелем с целью выявления ампликона с экспандированными повторами применяли метод «Repeat-primed» ПЦП (RP-PCR).

По результатам исследования наиболее часто выявлялись аллели с 2, 5 и 8 копиями гексануклеотидных повторов в гене *C9orf72*, что согласуется с данными литературы. В группе БАС были выявлены 7 пациентов с патологической экспансией гексануклеотидных повторов (больше 50), в одном случае наблюдался отягощённый семейный анамнез. Частота встречаемости патологической экспансии при БАС составила 3%, при этом в группе контроля данной мутации обнаружено не было ( $p < 0,05$ ). В группе БП носительства патологической экспансии выявлено не было, однако у 4 пациентов обнаружена «промежуточная» степень экспансии гексануклеотидных повторов (19—20 копий), частота которой при БП составила 2,3% (в контроле «промежуточной» экс-

пансии не выявлено,  $p < 0,05$ ). По клинической картине пациенты с «промежуточной» экспансией существенно не отличались от классического фенотипа БП. В группе АП исследуемых мутаций в гене *С9orf72* нами обнаружено не было.

Таким образом, в работе была подтверждена значимость патологической экспансии гексануклеотидных повторов в гене *С9orf72* для развития БАС и «промежуточной» экспансии тандемных повторов в этом же гене — для БП.

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

## **Анализ профиля микроРНК в различных отделах мозга человека**

*Филатова Е.В., Шадрина М.И., Сломинский П.А.*

*ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН;  
123182, пл. академика Курчатова, д. 2, Москва, Россия  
e-mail: filatovaev@img.ras.ru*

В последнее десятилетие стало очевидно, что в связи с растущим количеством исследований, посвящённых роли микроРНК при протекании различных клеточных процессов как в норме, так и при патологии, существует необходимость в составлении подробной базы данных о последовательности и экспрессии всех известных микроРНК во всех органах и тканях.

В ходе нашей работы мы впервые получили профили относительных уровней 88 наиболее распространённых микроРНК в пятнадцати отделах головного мозга человека в норме. Проведённый нами кластерный анализ показал, что по уровню экспрессии изученные нами микроРНК можно разбить на три кластера. В первый кластер вошло более трети проанализированных микроРНК, чьи уровни были относительно низкими во всех изученных тканях. Во второй кластер вошли микроРНК, чьи относительные уровни сильно варьируют между различными отделами мозга. Третий кластер представлен микроРНК с относительно высоким уровнем экспрессии. Представленность двух микроРНК из этого кластера, miR-7 и miR-128, оказалась высокой во всех изученных отделах мозга.

Проведённый кластерный анализ также показал, что для некоторых отделов мозга характерны сходные профили экспрессии микроРНК. Так, сходные уровни большинства микроРНК выявлены в чёрной субстанции, вентральной области покрышки, а также в скорлупе и таламусе. Это может отражать функциональную взаимосвязь этих отделов мозга. Можно отметить сходные паттерны экспрессии микроРНК в теменной и височной долях коры больших полушарий, тогда как в лобной коре наблюдается другой спектр экспрессии проанализированных микроРНК. Таким образом, на основе наших данных можно сделать предположение о роли той или иной микроРНК в функционировании определённых отделов мозга человека.

## **Применение памидроната в лечении несовершенного остеогенеза**

*Филимонова М.Н., Назаренко Л.П., Мухачева В.В., Смирнова И.И., Рудко А.А.*

*ФГБНУ «НИИ медицинской генетики»,  
Томск, ул.Набережная р.Ушайки 10,  
E-mail: margarita.filimonova@medgenetics.ru*

На сегодня терапией выбора является раннее применение бисфосфонатов у пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением заболевания. Ранее проведённые и проводимые в настоящее время исследования подтверждают эффективность применения этих препаратов у больных с несовершенным остеогенезом (НО) в разные возрастные периоды. Под нашим наблюдением, в отделении наследственных болезней генетиче-

ской клиники, находилось 12 детей с НО различной степени тяжести заболевания: тяжёлая форма — 5 детей, среднетяжёлая — 4 ребёнка, лёгкая — 3 ребёнка (2 мальчика и 10 девочек).

Пациентам было проведено клиническо-генеалогическое обследование. Проводились лабораторные исследования (биохимический анализ крови, общий анализ крови, ионнограмма мочи, общий анализ мочи, денситометрия) на 1-й, 3-й, 7-й день терапии.

Памидронат назначали три дня подряд: в дозе 0,25 мг/кг в первый день инфузии для детей младше 2 лет и 0,5 мг/кг на второй и третий день, для пациентов старше 2 лет — по 0,5 мг/кг в первый день, и 0,7 мг/кг на второй и третий день, а старше 3 лет — 1 мг/кг все три дня. Циклы инфузий повторялись каждые 3 месяца.

При первичном введении препарата, в первые и вторые сутки у 30% больных отмечались повышение температуры (38,5—39,5°C), ухудшение самочувствия, усиление слабости, боль в крупных и мелких суставах. Эти явления купировались на фоне симптоматической терапии. В течение 2 дней восстанавливалось удовлетворительное состояние. При повторном введении препарата через 3 месяца и далее самочувствие детей не страдало, температура не повышалась. Пациенты не отмечали положительной динамики после проведения первых курсов терапии памидронатом. И только через год после лечения самочувствие пациентов значительно улучшилось: уменьшилось количество переломов, уменьшились боли и усталость, увеличилась масса тела, повысилась двигательная активность (те пациенты, которые не ходили, начали передвигаться при помощи вспомогательных средств). В биохимических показателях крови отмечено незначительное снижение уровня кальция. Через месяц после терапии уровень кальция у всех пациентов стабилизировался в пределах возрастной нормы. Таким образом, данный вид терапии может применяться только в стационаре под контролем клинико-лабораторных показателей. Следовательно, раннее и эффективное лечение возможно в любом возрасте, и оно может увеличить длительность и улучшить качество жизни.

## **Инновационные образовательные технологии в практической работе кафедры медицинской генетики**

*Филиппова Т.В., Субботина Т.И., Рожнова Т.М., Асанов А.Ю.*

*ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России,  
кафедра медицинской генетики, 119991, Москва, ул. Трубецкая,  
д.8, стр.2  
dr.filippova@mail.ru*

В современных условиях изменения социально-экономической и культурно-политической жизни в России изменяется и образование. Одним из особенно важных преобразований в системе высшего образования в нашей стране является введение федеральных государственных образовательных стандартов, обусловленное необходимостью подготовки выпускников к жизни в высокотехнологичном конкурентном мире. Всё более актуальной и востребованной становится компетентностная ориентация образовательного процесса, направленная на формирование практических навыков студентов, их умений и знаний. При обучении в университете важно научить студентов логическому, образному и клиническому мышлению, сформировать навыки и умения в выбранной ими специальности и ориентировать их на последующее непрерывное профессиональное образование и самосовершенствование. Совершенно очевидно, что необходимые изменения в образовании могут происходить только в том случае, если и педагог будет стремиться совершенствовать свою профессиональную деятельность. В связи с этим, использование современных образовательных технологий может обеспечить целостность образовательного



процесса, вызвать более высокий познавательный интерес обучающихся и их творческую активность.

Образовательные технологии тесно связаны с учебным процессом: совместной работой преподавателя и студентов, новыми методами, формами и средствами обучения, новыми подходами к организации и проведению практических занятий и лекций, а также с самостоятельной практической работой. Поэтому возникает необходимость внедрения таких технологий, которые бы не только обеспечивали необходимый уровень знаний по конкретным учебным предметам, но и способствовали развитию профессиональных навыков и мотивации к будущей профессиональной деятельности. В связи с этим, преподавателями кафедры медицинской генетики ведётся постоянный поиск, освоение и внедрение новых технологий преподавания дисциплины с целью наилучшего усвоения студентами учебного и практического материала.

### Выявление функционального экспрессионного кластера генов ABC-транспортеров в опухоли молочной железы

**Цыганов М.М.<sup>1,2</sup>, Ибрагимова М.К.<sup>1</sup>, Дерюшева И.В.<sup>1</sup>, Чердынцева Н.В.<sup>1,2</sup>, Литвяков Н.В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> Томский НИИ онкологии, Россия, г.Томск, пер. Кооперативный, 5, 634050

<sup>2</sup> НИ Томский государственный университет, Россия, г.Томск, пр. Ленина, 36, 634050

E-mail: TsyganovMM@yandex.ru

Ранее нами были получены данные об однонаправленном изменении экспрессии генов ABC-транспортеров в опухоли молочной железы при проведении неоадьювантной химиотерапии (НХТ) (Литвяков Н.В. и др., 2013). В этой связи было высказано предположение о существовании функционального экспрессионного кластера генов ABC, за счёт работы которого у большинства пациентов и происходит однонаправленное изменение их экспрессии. Цель исследования — доказательство существования функционального экспрессионного кластера генов ABC у пациентов в опухоли молочной железы.

В исследование были включены 69 больных РМЖ. Все пациенты получали 2—4 курса НХТ (FAC, CAX). ДНК выделяли из 69 биопсийных образцов, РНК из парных образцов до лечения и операционных образцов после НХТ. Оценку экспрессии генов ABC (*ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCC5*, *ABCG1*, *ABCG2*) проводили методом qPCR. Исследование SNP проводили при помощи микроматрицы Cyto Scan HD Array (Affymetrix, USA) по 750 000 SNP для каждого больного.

Для доказательства существования функционального экспрессионного кластера генов ABC было использовано два подхода:

1. При помощи корреляционного анализа были определены кластеры коэкспрессии генов ABC до лечения и после НХТ;
2. При помощи лог-линейной регрессии (с учётом поправки Бонферрони) была проанализирована связь SNP с уровнем экспрессии генов ABC до лечения и после НХТ в рецессивной модели наследования.

Коэкспрессия была установлена только для *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2* и *ABCG2*. Максимально возможная группа генов с перекрывающимися SNP также показана для этих генов. С начальным уровнем экспрессии этих генов ассоциированы 21 SNP: *rs17535305*, *rs61840266*, *rs35945601*, *rs17571991*, *rs6569487*, *rs9495425*, *rs62442010*, *rs12701634*, *rs13272093*, *rs12549485*, *rs7818112*, *rs13255060*, *rs10840501*, *rs4771495*, *rs10147475*, *rs28458425*, *rs7165938*, *rs9303363*, *rs3044400*, *rs12965274*, *rs3827963*, ( $p < 0,001$ ). После проведения НХТ количество общих SNP для этой же группы генов уменьшается до 6: *rs2680835*, *rs4676478*, *rs6896596*, *rs1154121*, *rs1951366*, *rs12018988*, ( $p = 0,004$ ).

В результате проведенного исследования, было доказано существование функционального экспрессионного кластера из

4-х генов ABC. Исследование механизмов регуляции этого кластера может способствовать выявлению новых мишеней для управления химиорезистентностью опухоли.

### Неонатальный скрининг в Алтайском крае

**Цыпченко О.В., Никонов А.М., Таскина Н.И.**

КГБУЗ «Диагностический центр Алтайского края», Алтайская межрегиональная медико-генетическая консультация, 656038 г.Барнаул, пр. Комсомольский 75a  
osypchenko@dcak.ru

В Алтайском крае массовое обследование новорождённых на наследственные болезни началось со второй половины 1992 г. с фенилкетонурии, а в 1994 г. к скринингу был подключен врождённый гипотиреоз. В 2006 г. в рамках национального проекта «Здоровье» внедрены скрининговые программы на адреногенитальный синдром, муковисцидоз и галактоземию.

В таблице представлены данные по массовому обследованию новорождённых за период 1993—2014 гг. и частота выявленных наследственных болезней на территории Алтайского края. Частота фенилкетонурии, врождённого гипотиреоза и адреногенитального синдрома не отличается от средней частоты этих заболеваний в Российской Федерации. В то же время частота муковисцидоза и галактоземии в Алтайском крае почти в два раза выше, что требует специального анализа.

Наследственное заболевание обмена веществ	Обследовано новорождённых	Выявлено больных	Частота заболевания в Алтайском крае	Частота заболевания в РФ
Фенилкетонурия	541 133	86	1 : 6 292	1 : 7 697
Врождённый гипотиреоз	425 886	110	1 : 3 872	1 : 4 132
Адреногенитальный синдром	247 055	32	1 : 7 720	1 : 8 662
Муковисцидоз	246 389	44	1 : 5 600	1 : 11 585
Галактоземия	223 830	10	1 : 22 383	1 : 32 692

Молекулярно-генетическое обследование 54 больных фенилкетонурией на шесть наиболее частых мутаций гена *FAH* обнаружило преобладание мутации R408W (64,8%). Обследование 31 больного муковисцидозом на наиболее частые мутации гена *MTFR* показало преобладание в популяции мутации delF508 (64,5%).

Все дети с выявленными по неонатальному скринингу наследственными болезнями обмена веществ получают соответствующее лечение и наблюдаются специалистами: — генетиком, эндокринологом, гастроэнтерологом, пульмонологом, педиатром.

### Идентификация мутаций в генах саркомерных белков у пациентов с ГКМП из России и Беларуси с использованием NGS технологии

**Чакова Н.Н.<sup>1</sup>, Ниязова С.С.<sup>1</sup>, Комиссарова С.М.<sup>2</sup>, Жукова Е.А.<sup>3</sup>, Данилова М.М.<sup>4</sup>, Пакин В.С.<sup>4</sup>, Глотов А.С.<sup>3,4</sup>**

<sup>1</sup> Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь, e-mail: n.chakova@igc.bas-net.by

<sup>2</sup> Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Минск, Беларусь

<sup>3</sup> ФГБУ НИИГА им. Д.О. Отта СЗО РАМН, С.-Петербург, Россия

<sup>4</sup> С.-Петербургский государственный университет, Россия

Гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП) является генетически детерминированным заболеванием миокарда, которое чаще всего наследуется по аутосомно-доминантному типу и характеризуется асимметричной гипертрофией левого желу-

дочка (ЛЖ). К настоящему времени у пациентов с ГКМП выявлено как минимум 13 генов и более чем 1400 различных мутаций в генах, кодирующих преимущественно белки саркомера. Доказано, что ГКМП имеет популяционную специфику генетических аномалий, при этом имеются сведения о сходстве спектра мутаций у российский и белорусских пациентов с ГКМП.

Целью работы являлось сравнительное изучение спектра мутаций в генах *ACTC1*, *MYBPC3*, *MYH7*, *MYL2*, *MYL3*, *TNNI3*, *TNNI2*, *TRPM1* и *CASQ2* у пациентов с ГКМП в белорусской и российской популяциях. С использованием NGS технологии на генетическом анализаторе Personal Genome Machine Ion Torrent проводился поиск мутаций у 25 неродственных пациентов с ГКМП из России (г.С.-Петербург) и 11 из Беларуси, а также у 21 добровольца без ГКМП.

У 6 пациентов (54,5%) с ГКМП из Беларуси выявлены ранее описанные при данном заболевании мутации: Arg58Gln

(*MYL2*), Arg403Trp и Lys847del (*MYH7*), Gln1233Term и Trp1214Arg (*MYBPC3*), а также сочетание двух мутаций Arg502Gln (*MYBPC3*) и Arg1712Trp (*MYH7*). У 6 пациентов из России обнаружены ранее описанные мутации: Arg663Cys, Arg870Cys, Met982Thr (у 2 чел.) и Arg1712Gln в гене *MYH7*, Gln1233Term в гене *MYBPC3*. Замена Gln1233Term (*MYBPC3*), обнаруженная как у пациента с ГКМП из России, так и у пациента из Беларуси, была выявлена совместно с функционально-значимым полиморфизмом Arg326Gln в этом же гене. Замена аминокислоты Arg на Trp в положении 1712 у белорусского пациента произошла в результате мутации с.5134C>T, а у российского пациента замена этой же аминокислоты на Gln определялась мутацией в соседнем сайте с.5135G>A.

Таким образом, спектр мутаций в генах, кодирующих саркомерные белки, у пациентов с ГКМП России и Беларуси, значительно перекрывается, но имеет и свои особенности.