Случай множественной экзостозной хондродисплазии в якутской семье, обусловленной редкой мутацией в гене EXT2

Яковлева А.Е.¹, Петухова Д.А.¹, Голикова П.И.¹, Гуринова Е.Е.², Данилова А.Л.¹, Сухомясова А.Л.¹², Максимова Н.Р.¹

- ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова» Якутск, Россия
- 2 ГАУ РС (Я) «Республиканская больница №1 Национальный Центр Медицины» Якутск, Россия

Введение. Множественная экзостозная хондродисплазия (МЭХД) – наследственное аутосомно-доминантное заболевание скелета, которое характеризуется образованием множественных хрящевых экзостозов в зонах роста костей. Консультирование семей с МЭХД является сложной задачей для врача-генетика. В статье приведены клинические, молекулярно-генетические данные обследования большой якутской семьи с аутосомно-доминантной наследственной МЭХД, причиной которой является редкая мутация в гене *EXT2*.

Цель: проведение клинико-генеалогического, молекулярно-генетического обследования больных с клиническим диагнозом МЭХД.

Методы. В исследование включены 4 поколения одной якутской семьи (11 больных и здоровых членов). Секвенирование экзома одного члена семьи (ДНК пробанда) проводилось на секвенаторе MiSeq Illumina с использованием панели, включающей 4800 генов. Патогенность выявленной мутации подтверждалась *in silico*, а также секвенированием по Сэнгеру с использованием ДНК пробанда, его родителей. Данный метод также был использован для выявления мутации у остальных членов семьи.

Результаты. В результате молекулярно-генетического исследования у 7 членов семьи с клиническим диагнозом МЭХД была выявлена редкая нонсенс-мутация с.751C>T в экзоне 5 гена *EXT2* в гетерозиготном состоянии. Данная мутация отсутствовала у 4 здоровых членов этой семьи, а также в 10 образцах из контрольной группы. Оценка патогенности выявленной мутации показала, что данная мутация является причиной возникновения МЭХД в якутской семье.

Заключение. Ранняя медицинская помощь пациентам с диагнозом МЭХД может дать возможность оказания медицинской помощи пациентам специалистами разного профиля, а также сосредоточить внимание врачей на ортопедических проблемах в раннем возрасте.

Ключевые слова: множественная экзостозная хондродисплазия, *EXT2*, массовое параллельное секвенирование (МПС), якуты

Для цитирования: Яковлева А.Е., Петухова Д.А., Голикова П.И., Гуринова Е.Е., Данилова А.Л., Сухомясова А.Л., Максимова Н.Р. Случай множественной экзостозной хондродисплазии в якутской семье, обусловленной редкой мутацией в гене *EXT2. Медицинская генетика* 2019; 18(12): 25-33. **DOI:** 10.25557/2073-7998.2019.12.25-33

Автор для корреспонденции: Яковлева Александра Еремеевна; e-mail: alexerem2013@yandex.ru

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Главы Республики Саха (Якутия) для молодых ученых, специалистов, студентов на 2017 г. (№103-РГ от 7 февраля 2017 г.).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 29.11.2019

The case of multiple osteohondromas in Yakut family (Eastern Siberia, Russia) caused by rare mutation in the *EXT2* gene

Yakovleva A.E.¹, Petukhova D.A.¹, Golikova P.I.¹, Gurinova E.E.², Danilova A.L.¹, Sukhomyasova A.L.^{1,2}, Maksimova N.R.¹

- «Ammosov North-Eastern Federal University» Yakutsk, Russia
- 2 Republican Hospital №1 «National Medical Center» Yakutsk, Russia

Introduction. Multiple osteohondromas (MO) is an autosomal dominant inherited skeletal disease characterized by the formation of multiple cartilaginous exostoses in the areas of growth in a long bones. Difficult issues arise for the genetic counseling of families with MO. We presents the clinical and molecular genetic analysis of four-generation Yakut family with an autosomal dominant inherited MO, caused by a rare mutation in the *EXT2* gene.

Aim: conducting a clinical, genealogical, molecular genetic study of patients with a clinical diagnosis MO.

Methods. Targeted panel sequencing performed for the 4800 known candidate genes using Trusight One Sequencing Panel (Illumina Inc., USA) on one sample (DNA of proband). Sanger sequencing was performed for validation of candidate disease causing mutation in DNA from a proband and family members.

Results. A rare EXT2 nonsense mutation (c.751C> T, p.Gln251*) was revealed by targeted exome sequencing and validated by Sanger sequencing in the 7 MO-affected members of this family. The variant was interpreted as pathogenic based on an in silico analysis. This mutation was absent in 4 healthy members of this family and in 10 controls.

Conclusions. This is the first study of *EXT2* gene mutation in a Russian patients from Yakut family with MO. Timely health care of patients with diagnosis of MO can contribute to establishment coordinated multispecialty management of the patient focusing on the orthopedic problems issues through childhood.

Key words: multiple osteochondromas, EXT2, massive parallel sequencing (MPS), Yakuts

For citation: Yakovleva A.E., Petukhova D.A., Golikova P.I., Gurinova E.E., Danilova A.L., Sukhomyasova A.L., Maksimova N.R. The case of multiple osteohondromas in Yakut family (Eastern Siberia, Russia) caused by rare mutation in the *EXT2* gene. *Medical genetics* 2019; 18(12): 25-33. [In Rus] **DOI:** 10.25557/2073-7998.2019.12.25-33

Corresponding author: Yakovleva Aleksandra; e-mail: alexerem2013@yandex.ru

Funding. This work was financially supported by a grant from the Head of the Republic of Sakha (Yakutia) for young scientists, specialists, and students for 2017 (Nº103-RG of February 7, 2017).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Accepted: 29.11.2019

Введение

ножественная экзостозная хондродисплазия (МЭХД, ОМІМ #133700, #133701) -наследственное заболевание скелета, которое характеризуется образованием множественных хрящевых экзостозов в зонах роста костей. Заболевание относится к числу достаточно распространенных, встречается в разных популяциях с частотой 1,3-2 случая на 10 тыс. человек, среди больных ортопедического профиля – с частотой 1,4 на 10 тыс. [1]. В России по данным эпидемиологических исследований наследственных болезней, МЭХД встречается с довольно высокой частотой с явной этнической и генетической подразделенностью: у татар (4,70 на 100 тыс.), у башкир (0,58 на 100 тыс.), у чувашей (3,36 на 100 тыс.), у адыгейцев (1,54 на 100 тыс.), а также в русских популяциях Костромской области (1,57 на 100 тыс.), Краснодарского края (0,97 на 100 тыс.), Кировской области (1,74 на 100 тыс.) [2-4]. Наши предыдущие исследования показали, что распространенность МЭХД в Республике Саха (Якутия) составляет 8,9 на 100 тыс. населения [5]. МЭХД имеет аутосомно-доминантный тип наследования, около 80% пациентов имеют семейный анамнез заболевания, также встречаются спорадические случаи [6]. Данное заболевание начинает проявляться в возрасте до 4-х лет, встречаются как бессимптомные формы, так и генерализованные поражения скелета. Размер и количество экзостозов постоянно увеличиваются, вызывая деформации суставов и костей, ограничения движения, сдавливая нервы, кровеносные сосуды, соединительную ткань [7]. Серьезным осложнением МЭХД является злокачественная трансформация экзостозов в хондросаркому или остеосаркому, встречающаяся у 0,5–5% пациентов с МЭХД [8].

Предыдущие исследования молекулярно-генетических механизмов развития МЭХД показали, что мутации в генах EXT1, EXT2, EXT3 играют важную роль в патогенезе данного заболевания [9]. Наиболее частыми являются мутации в генах EXT1, EXT2, которые отвечают за 90% всех случаев МЭХД [5]. Известно, что белки, кодируемые генами *EXT1* и *EXT2*, представляют собой трансмембранные гликопротеины, которые связаны с гликозилтрансферазой, участвующей в полимеризации гепарансульфата ключевой молекулы в регулировании пролиферации хондроцитов и роста костей [10]. Большинство мутаций, которые были идентифицированы в генах EXT1 и EXT2, являются нонсенс-мутациями, мутациями со сдвигом рамки считывания или сайта сплайсинга, приводящими к преждевременной терминации синтеза белка [11].

Введение в клиническую практику новых технологий ДНК-диагностики, таких как метод массового параллельного секвенирования (МПС) с использованием обогащенных экзомных панелей, позволило сократить время исследования и главным образом выявить молекулярно-генетическую причину заболевания.

В статье представлены клинические, молекулярногенетические характеристики больных - членов одной якутской семьи с аутосомно-доминантным типом наследования МЭХД, причиной которого является редкая мутация в гене *EXT2*.

Методы

В настоящее исследование было включено 4 поколения одной якутской семьи, проживающей в сельской местности Республики Саха (Якутия) (рис.1). Из анамнеза известно, что 9 членов семьи имели клинические проявления МЭХД, двух из них нет сейчас в живых. Остальные 7 членов семьи состоят на учете и наблюдаются в Медико-генетическом центре ГАУ РС(Я) Республиканской больницы №1 — Национальном центре медицины. Материалом для настоящего исследования послужили 11 образцов ДНК здоровых и больных членов этой семьи, взятых с их информированного согласия, а также 10 образцов ДНК здоровых неродственных индивидов из контрольной группы. Проведение данного исследования было одобрено локальным комитетом по биомедицинской этике (протокол №8 от 11 ноября 2016 г., решение №3).

Для диагностики МЭХД использовали комплекс методов обследования: генеалогический анализ, ор-

топедический осмотр, рентгенологическое исследование и современные методы ДНК-диагностики (прямое секвенирование по Сэнгеру, массовое параллельное секвенирование — МПС).

Молекулярно-генетический анализ проведен на базе учебно-научной лаборатории «Геномная медицина» Клиники Медицинского института ФГАОУ ВО СВФУ им. М.К. Аммосова. Выделение геномной ДНК проводили из лейкоцитов периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции. Секвенирование экзома пробанда (IV.9) проведено на секвенаторе MiSeq (Illumina, USA) со средним покрытием 70–100х с использованием панели Trusight One Sequencing panel (Illumina, USA), включающей 4800 генов с известным клиническим значением. Все этапы пробоподготовки для парно-концевых библиотек ДНК (paired-end library) и непосредственного секвенирования проведены согласно инструкции производителя Illumina [12].

Первичная обработка результатов секвенирования (определение нуклеотидных оснований, демуль-

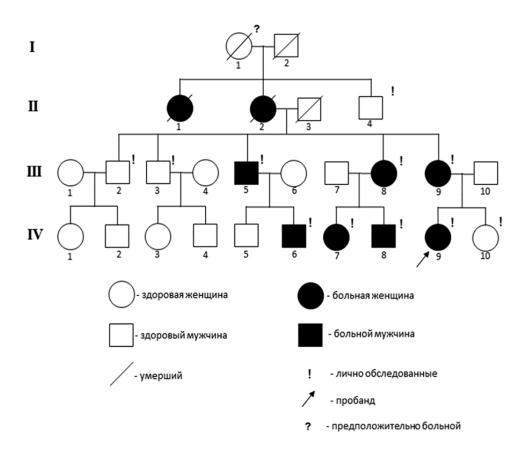


Рис. 1. Родословная семьи, отягощенной МЭХД.

типлексирование, генерация FASTQ-файлов) проведена с использованием автоматизированного алгоритма во встроенной программе системы MiSeq. Вторичный анализ был выполнен с использованием программного обеспечения Sophia DDM v4 (Sophia Genetics, Switzerland). Полученные чтения были выровнены на референсную последовательность генома человека GRCh37 (hg19).

Для аннотации (описания свойств) выявленных вариантов был использован транскрипт гена *EXT2*: NM_001178083. Для клинической интерпретации и поиска потенциально патогенных вариантов руководствовались рекомендациями Американской ассоциации медицинских генетиков [13], а также руководством по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) [14].

Для названия выявленных вариантов использовалась номенклатура, представленная на сайте https://varnomen.hgvs.org/recommendations/DNA/.

Для предсказания функциональной значимости найденных вариантов нуклеотидной последовательности была использована компьютерная программа MutationTaster (http://www.mutationtaster.org/).

Для подтверждения результатов полноэкзомного секвенирования проведено прямое секвенирование по Сэнгеру на генетическом анализаторе ABI 3500 (Life Technologies, USA), с использованием олигонуклеотидных праймеров (таблице). Данный участок гена был исследован у 11 членов семьи (II.4, III.2, III.3, III.5, III.8, III.9, IV.6, IV.7, IV.8, IV.9, IV.10), а также у 10 неродственных здоровых индивидов (контроль). Результаты были аннотированы с использованием программного пакета SeqScape 3.0 Software (Applied Biosystems, USA).

Результаты

Клинический осмотр был проведен 11 членам семьи в возрасте от 20—89 лет. Семи членам семьи (III.5, III.8, III.9, IV.6, IV.7, IV.8, IV.9) был поставлен предполагаемый клинический диагноз МЭХД, который удалось подтвердить результатами ДНК-анализа. Клинические проявления у всех пораженных членов семьи

были достаточно однотипными. Экзостозы начинали появляться в первом десятилетии жизни и продолжали прогрессировать до закрытия зон роста костей в 18−20 лет. Злокачественных трансформаций ни у кого не отмечено. Ниже представлено подробное описание клинических характеристик одного члена семьи (пробанда IV.9) с диагнозом МЭХД, состоящей на учете в Медико-генетическом центре ГБУ РС(Я) РБ№1 — Национальном центре медицины.

Пробанд — девушка, 20 лет. Родители пробанда впервые обратились к врачу-генетику в Медико-генетический центр Республиканской больницы №1 — Национального центра медицины в марте 2009 г., когда ей было 10 лет с жалобами на опухолевидные образования в области костей правых конечностей. Ребенок от первой беременности, протекавшей со слов матери без особенностей, роды в срок. Вес при рождении 3388 г., длина 50 см. Оценка по шкале Апгар 7-8 баллов. Профилактические прививки получала по возрасту. Самостоятельно стала ходить в 1 год. Перенесенные заболевания: ОРВИ, острый бронхит, аллергический дерматит, ветряная оспа. На естественном вскармливании была до 2-х лет. Экзостозы начали появляться с 5 месяцев.

При осмотре в 2009 г. ребенок был пропорционального телосложения, масса тела 30,5 кг, рост 132 см., голова округлой формы, отмечается умеренная асимметрия лица, слух не нарушен, грудная клетка сформирована правильно. На плечевой кости на обеих руках имелись экзостозы размерами: слева 5х6 см, справа 2х3 см. Левая рука была укорочена из-за наличия экзостозов в области локтевой и лучевой костей. На правой ноге экзостозы располагались в области костей голени и на тыльной поверхности стопы. Были проведены лабораторно-инструментальные исследования. Биохимический анализ крови показал следующие результаты: щелочная фосфатаза 275 ед/л, кальций 2,50 ммоль/л, неорганический фосфор 2,02 ммоль/л. По данным рентгенограммы плеча и предплечий в 2-х проекциях соотношения в суставах не были нарушены (рис.2). Справа в проксимальном метафизе плечевой кости по задней — наружной поверхности имеется холмовидный экзостоз размером 3,0х1,0 см (рис.2.А).

Таблица

Праймеры и условия проведения ПЦР участков гена ЕХТ2

| Ген | Экзон | Последовательность праймеров | t⁰ отжига, ⁰ С | Количество циклов |
|------|-------|--|---------------------------|-------------------|
| EXT2 | 5 | F: 5'- GACTGGTAAGGAAACACTTAC-3' R: 5'- CATGTCCAGTAAAGAGCAATG-3' | 57,8 | 34 |

Слева в верхней и средней третях диафиза по задней внутренней поверхности - холмовидный экзостоз размером 7,0х1,5 см и шиловидный по наружной поверхности размером 1,0х0,3 см (рис.2.Б). На основании всех проведенных обследований ортопед поставил диагноз МЭХД, косорукость слева. Пациентке было рекомендовано оперативное лечение. В марте 2013 г. у пациентки появились жалобы на боли в ногах. Ортопедом было зафиксировано увеличение экзостозов на ногах и плечевых костях, особенно слева. Также наблюдались искривление костей предплечья, ульнарная девиация кистей, укорочение левой руки, ограничение пронации справа. В связи с непрекращающимися болями в сентябре 2013 г. больная должна была пройти оперативное лечение, но от него отказалась. Пробанд имела инвалидность III группы.

В 2018-2019 гг. на базе учебно-научной лаборатории «Геномная медицина» Клиники Медицинского института ФГАОУ ВО СВФУ им. М.К. Аммосова были проведены молекулярно-генетические исследования, клинический осмотр членов семьи и сделана рентгенограмма пробанду.

Клинический осмотр пробанда в возрасте 20 лет показал диспластическое телосложение, наличие экзостозов больших размеров на верхних конечностях слева и на нижних конечностях справа. Рентгенографическое исследование плечевой кости, предплечья слева в 2-х проекциях показало (рис.3), что взаимоотношение костей в суставах не было изменено. Суставные щели не сужены, замыкательные пластинки ровные, четкие. На уровне средней трети диафиза, по наружной поверхности левой плечевой кости отмечается

костно-хрящевой нарост на широком основании, неоднородной структуры, неправильной формы, размером 9,7х4 см (рис.3А и Б). На уровне средней трети диафиза лучевой кости по внутренней поверхности выявляется костный нарост с ровными, четкими контурами размером 2,9х1,2 см (рис.3В).

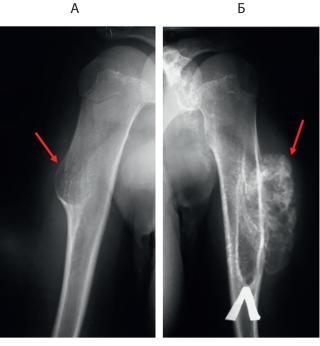


Рис. 2. Рентгенограмма экзостозов у пробанда (IV.9) 2009 г. А) холмовидный экзостоз размером 3,0х1,0 см. на правой руке; Б) холмовидный экзостоз размером 7,0х1,5 см. на левой руке.

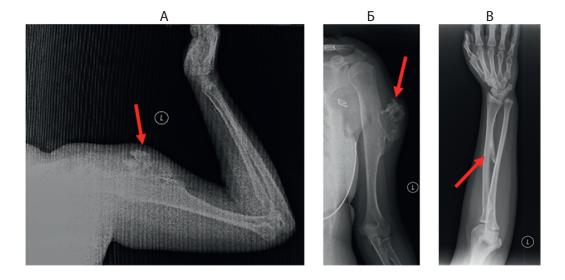


Рис. 3. Рентгенограмма экзостозов у пробанда (IV.9) 2019 г. А) Б) в плечевой кости левой руки В) в лучевой кости левой руки.

На следующем этапе для установления молекулярногенетической причины МЭХД пробанду было проведено секвенирование клинического экзома. В результате была выявлена нонсенс-мутация c.751C>T (p.Gln251*) в экзоне 5 гена *EXT2* в гетерозиготном состоянии. Проведена верификация этой мутации секвенированием по Сэнгеру, в результате которого наличие мутации было подтверждено (рис.4). Данный вариант нуклеотидной последовательности отсутствовала в базах данных ClinVar (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/ clinvar/), OMIM (https://www.omim.org), в контрольных выборках Exome Aggregation Consortium (http://exac. broadinstitute.org/), dbSNP build 153 (https://www.ncbi. nlm.nih.gov/snp/), dbVar (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/ dbvar/), Exome Variant Server (https://evs.gs.washington. edu/EVS/), но была обнаружена в Leiden Open Variation Database system (https://databases.lovd.nl/shared/genes/ ЕХТ2). В описанных в этой базе данных исследованиях [15–18] был проведен скрининг больных МЭХД, в результате которого была обнаруженная данная мутация вместе с остальными значимыми вариантами. Отдельного описания клинического случая с этой мутацией нет, а также не проведен анализ патогенной значимости этой мутации как экспериментально, так и *in silico*. Поэтому для выяснения функциональной значимости нами были проведены дальнейшие исследования. Согласно руководству по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (МПС), в первую очередь принимались во внимание варианты, блокирующие процесс синтеза белка, т.е. преимущественно варианты со сдвигом рамки считывания или нонсенс-варианты.

На рис. 4 представлена структура белка EXT2, состоящего из 718 аминокислот, двух функциональных доменов: домена экзостозина (100—380 аминокислотные позиции) и домена гликозилтрансферазы 64 (456—701 аминокислотные позиции). Нонсенс-мутация с.751С>Т создает сигнал преждевременной терминации трансляции в 251-ой аминокислотной позиции белка EXT2, т.е. возникает стоп-кодон. По сравнению с нормальным белком EXT2, в мутированном белке EXT2 не хватает 467 аминокислот на С-конце,

включая часть функционального домена экзостозина и весь функциональный домен гликозилтрансферазы 64, что приводит к серьезным функциональным нарушениям. Кроме этого, программа предсказания патогенности MutationTaster расценивает данную мутацию c.751C>T как вероятно патогенную.

Еще одной возможностью определения патогенного значения является анализ семейного анамнеза заболевания и поиск данного варианта v кровных родственников пациента. На основании тщательного клинико-генеалогического анализа родословной семьи нами было установлено, что отягощенность МЭХД наследуется по материнской линии (рис. 1). Клинический диагноз МЭХД был поставлен 7 членам этой семьи, включая пробанда. Всего было исследовано 11 образцов ДНК членов этой семьи. В результате проведения секвенирования по Сэнгеру у 7 членов семьи с клиническим диагнозом МЭХД была выявлена мутация с.751C>T в экзоне 5 гена *EXT2* в гетерозиготном состоянии, что говорит о полной (100%) пенетрантности данного мутантного аллеля (рис. 5). Данная мутация отсутствовала в 10 образцах из контрольной группы. Итак, согласно полученным в результате этого исследования данным, можно считать что вариант нуклеотидной последовательности с.751C>T в гене EXT2 имеет патогенное значение.

Обсуждение

Мутация с.751С>Т в гене *EXT2* выявлена как причина МЭХД в якутской семье. Ген *EXT2* локализован на хромосоме 11 в локусе 11р12-р11, состоит из 14 экзонов и двух экзонов на сайте альтернативного сплайсинга, кодирует трансмембранную гликозилтрансферазу типа II эндоплазматического ретикулума, принимающую участие в удлинении цепи при биосинтезе гепарансульфата, а также может действовать как фактор, ингибирующий рост опухолей, в частности остеосарком, сопровождающихся множественными экзостозами [19]. Продукт гена принимает участие в экспрессии протеогликанов на поверхности клетки и в экстрацеллюлярном матриксе. Мутация в гене приводит к снижению уровня гепарансульфата, образованию экзо-

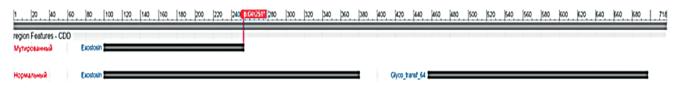


Рис. 4. Структуры нормального и мутированного белка ЕХТ2.

стозов, аномалиям эпифизов трубчатых костей, синлактилии.

По данным базы LOVD (https://databases.lovd.nl/shared/genes/EXT2) и литературных источников известно, что данная мутация была обнаружена в двух семьях из Италии и Австрии в результате скрининговых исследований генов *EXT1* и *EXT2* у больных МЭХД, проведенных в Италии и Канаде в 2005—2009 гг.

Клиническая картина экзостозов разнообразна и зависит от числа, величины, локализации и обусловленных ими деформаций. Число экзостозов колеблется от единичных до десятков, иногда сотен в одном скелете. При этом наиболее часто поражаются метафизы и диафизы длинных трубчатых костей, а также ребра, лопатки и кости таза, реже — кисти, стопы и позвоночник. Небольшие экзостозы, особенно единичные, обнаруживаются только рентгенологически и могут оказаться случайной находкой. Экзостозы больших размеров и множественные вызывают значительные деформации, определяются визуально и пальпаторно [20].

К настоящему времени по совокупным данным различных баз (ClinVar, dbSNP и т. д.) и литературы известно около 390 нуклеотидных замен в гене *EXT2*. Показано, что мутации со сдвигом рамки считывания, нонсенс-мутации, мутации сайта сплайсинга однозначно являются патогенными, большинство миссенсмутаций являются вариантами с неопределенной клинической значимостью, в нетранслируемых областях 3'-UTR и 5'-UTR, в основном, встречаются полиморфизмы. Большинство мутаций (рис. 6), патогенность которых не вызывает сомнения, локализованы в экзонах 2, 5 и 8 гена *EXT2* и нарушают аминокислотную последовательность домена экзостозина. Нарушение

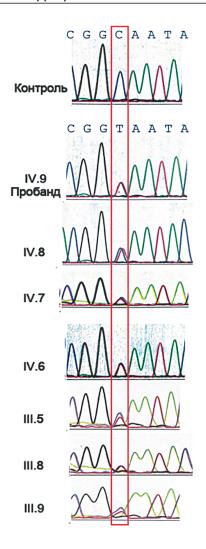


Рис. 5. Результаты секвенирования по Сэнгеру членов якутской семьи.

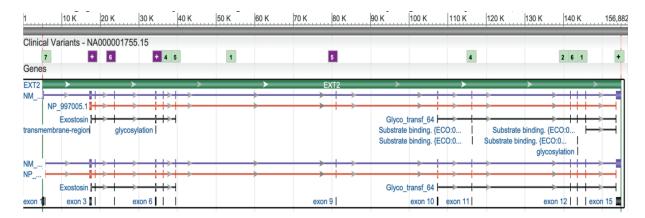


Рис. 6. Структура гена *EXT2* с клинически описанными вариантами по данным ClinVar (фиолетовые квадраты – известные патогенные мутации, зеленые –полиморфизмы или мутации, приводящие к «мягкому» фенотипу МЭХД.

функционирования этого домена приводит к нарушению синтеза гепарансульфата, обуславливая негативный эффект мутации в гене.

Заключение

В статье представлено первое в России описание клинико-молекулярно-генетических характеристик МЭХД в якутской семье, причиной которой явилась редкая нонсенс-мутация c.751C>T в гене *EXT2*.

Анализ клинических проявлений у больных членов обследованной семьи свидетельствуют в пользу умеренного течения болезни, не приводящего к выраженной инвалидизации больных, без злокачественной трансформации экзостозов.

Таким образом, можно отметить, что молекулярногенетическая идентификация мутации с.751С>Т в гене *EXT2* успешно апробирована и может быть внедрена в практику медико-генетического консультирования. Ранняя медицинская помощь пациентам с диагнозом МЭХД может дать возможность установить скоординированное многопрофильное наблюдение пациента, сосредоточить внимание на ортопедических проблемах еще в детстве. Вместе с этим стоит отметить, что остается высокой доля больных в регионе, у которых причины МЭХД остаются неизвестными. На данный момент нами продолжаются исследования методом прямого секвенирования по Сэнгеру спектра мутаций в генах *EXT1* и *EXT2*.

Список литературы

- Wicklund C.L., Pauli R.M., Johnston D., Hecht J.T. Natural history study of hereditary multiple exostoses. *American Journal of Medical Genetics* 1995; 55:43–46. doi:10.1002/ajmg.1320550113.
- Национальное руководство: наследственные болезни / под ред. акад. РАМН Н.П. Бочкова, акад. РАМН Е.К. Гинтера, акад. РАМН В.П. Пузырева. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. — 936 с.
- Зинченко Р.А., Ельчинова Г.И., Барышникова Н.В., Поляков А.В., Гинтер Е.К. Особенности распространения наследственных болезней в различных популяциях России. Генетика 2007; 43:1246—1254.
- Зинченко Р.А., Ельчинова Г.И., Гинтер Е.К. Факторы, определяющие распространение наследственных болезней в российских популяциях. Медицинская генетика 2009; 12(90):7–23.
- Федотов В.П., Курбатов С.А., Никитин С.С., Миловидова Т.Б., Галеева Н.М., Поляков А.В. Семейный случай сегрегации наследственной моторно-сенсорной нейропатии 1В типа с множественными экзостозами у монозиготных близнецов. Нервномышечные болезни 2015;5:48–52.
- Porter D.E., Lonie L., Fraser M., Dobson-Stone C., Porter J.R., Monaco A.P., et al. Severity of disease and risk of malignant change in hereditary multiple exostoses: A genotype-phenotype study. *The Journal of Bone and Joint Surgery. British volume*. 2004; 86-B:1041–1046. doi:10.1302/0301-620X.86B7.14815.
- Hennekam R.C. Hereditary multiple exostoses. *Journal of Medical Genetics*. 1991;28:262–266. doi:10.1136/jmg.28.4.262.

- Bovée J.V. Multiple osteochondromas. Orphanet Journal of Rare Diseases 2008;3. doi:10.1186/1750-1172-3-3.
- 9. Lonie L., Porter D.E., Fraser M., Cole T., Wise C., Yates L., et al. Determination of the mutation spectrum of the *EXT1/EXT2* genes in British Caucasian patients with multiple osteochondromas, and exclusion of six candidate genes in *EXT* negative cases. *Human Mutation* 2006;27:1160–1160. doi:10.1002/humu.9467.
- McCormick C., Leduc Y., Martindale D., Mattison K., Esford L., Dyer A., et al. The putative tumour suppressor EXT1 alters the expression of cell-surface heparan sulfate. *Nature Genetics* 1998;19:158–161. doi:10.1038/514.
- Wuyts W., Van Hul W. Molecular basis of multiple exostoses: mutations in the EXT1 and EXT2 genes. *Human Mutation* 2000; 15:220–227. doi:10.1002/(SICI)1098 1004(200003)15:3<220::AID-HUMU2>3.0.CO;2-K.
- 12. TruSight One Sequencing Panel Series. Reference Guide. 2018. Available at: https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/chemistry_documentation/trusight_one/trusight-one-sequencing-panel-reference-guide-15046431-03.pdf. Accessed 25 Apr 2019.
- Richards S., Aziz N., Bale S., Bick D., Das S., Gastier-Foster J. et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in Medicine* 2015; 17:405–423. doi:10.1038/gim.2015.30.
- Рыжкова О.П., Кардымон О.Л., Прохорчук Е.Б., Коновалов Ф.А., Масленников А.Б., Степанов В.А., и др. Руководство по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) (Редакция 2018, версия 2). Медицинская Генетика 2018;18:3—23.
- Alvarez C.M., De Vera M.A., Heslip T.R., Casey B. Evaluation of the Anatomic Burden of Patients with Hereditary Multiple Exostoses: *Clinical Orthopaedics and Related Research* 2007;462:73

 –79. doi:10.1097/BLO.0b013e3181334b51.
- Pedrini E., De Luca A., Valente E.M., Maini V., Capponcelli S., Mordenti M., et al. Novel EXT1 and EXT2 mutations identified by DH-PLC in Italian patients with multiple osteochondromas. *Human Mutation* 2005;26:280–280. doi:10.1002/humu.9359.
- Jennes I., Pedrini E., Zuntini M., Mordenti M., Balkassmi S., Asteggiano C.G., et al. Multiple osteochondromas: mutation update and description of the multiple osteochondromas mutation database (MOdb). *Human Mutation* 2009;30:1620–1627. doi:10.1002/humu.21123.
- Alvarez C., Tredwell S., De Vera M., Hayden M. The genotype-phenotype correlation of hereditary multiple exostoses. *Clinical Genetics* 2006;70:122–130. doi:10.1111/j.1399-0004.2006.00653.x.
- 19. Pacifici M. Hereditary Multiple Exostoses: New Insights into Pathogenesis, Clinical Complications, and Potential Treatments. *Current Osteoporosis Reports* 2017;15:142–152. doi:10.1007/s11914-017-0355-2.
- Лагунова И.Г. Клинико-рентгенологическая диагностика дисплазий скелета: монография. М.: Медицина 1989. – 256 с.

References

- Wicklund C.L., Pauli R.M., Johnston D., Hecht J.T. Natural history study of hereditary multiple exostoses. *American Journal of Medical Genetics* 1995;55:43–46. doi:10.1002/ajmg.1320550113.
- Natsional'noye rukovodstvo: nasledstvennyye bolezni / pod red. akad. RAMN N.P. Bochkova, akad. RAMN Ye.K. Gintera, akad. RAMN V.P. Puzyreva [National guidance: hereditary diseases / ed. by N.P. Bochkov, E.K. Ginter, V.P. Puzyrev]. — M.: GEOTAR-Media, 2012. — 936 p. (In Russ.)

- Zinchenko R.A., El'chinova G.I., Baryshnikova N.V., Polyakov A.V., Ginter E.K. Osobennosti rasprostraneniya nasledstvennykh bolezney v razlichnykh populyatsiyakh Rossii [Features of the spread of hereditary diseases in various populations of Russia]. *Genetika [Russian Journal of Genetics]* 2007;43:1246–1254. (In Russ.)
- Zinchenko R.A., El'chinova G.I., Ginter E.K. Faktory, opredelyayushchiye rasprostraneniye nasledstvennykh bolezney v rossiyskikh populyatsiyakh [Factors determining the spread of hereditary diseases in Russian populations]. *Medicinskaya Genetika [Medical Genetics]* 2009;8 12(90):7–23. (In. Russ.)
- Fedotov V.P., Kurbatov S.A., Nikitin S.S., Milovidova T.B., Galeeva N.M., Polyakov A.V. Semeynyy sluchay segregatsii nasledstvennoy motorno-sensornoy neyropatii 1V tipa s mnozhestvennymi ekzostozami u monozigotnykh bliznetsov [A familial case of segregation of motor sensory neuropathy type 1B with multiple exostoses in monozygous twins]. Nervno-Myshechnye Bolezni [Neuromuscular diseases] 2015;5:48–52. (In. Russ.)
- Porter D.E., Lonie L., Fraser M., Dobson-Stone C., Porter J.R., Monaco A.P., et al. Severity of disease and risk of malignant change in hereditary multiple exostoses: A genotype-phenotype study. *The Journal of Bone and Joint Surgery. British volume*. 2004;86-B:1041-6. doi:10.1302/0301-620X.86B7.14815.
- Hennekam R.C. Hereditary multiple exostoses. *Journal of Medical Genetics*. 1991;28:262–6. doi:10.1136/jmg.28.4.262.
- Bovée J.V. Multiple osteochondromas. Orphanet Journal of Rare Diseases. 2008;3. doi:10.1186/1750-1172-3-3.
- Lonie L., Porter D.E., Fraser M., Cole T., Wise C., Yates L., et al. Determination of the mutation spectrum of the EXT1/EXT2 genes in British Caucasian patients with multiple osteochondromas, and exclusion of six candidate genes in EXT negative cases. Human Mutation 2006;27:1160–1160. doi:10.1002/humu.9467.
- McCormick C., Leduc Y., Martindale D., Mattison K., Esford L., Dyer A., et al. The putative tumour suppressor EXT1 alters the expression of cellsurface heparan sulfate. *Nature Genetics* 1998;19:158–161. doi:10.1038/514.
- 11. Wuyts W., Van Hul W. Molecular basis of multiple exostoses: mutations in the EXT1 and EXT2 genes. *Human Mutation* 2000;15:220–227. doi:10.1002/(SICI)1098 1004(200003)15:3<220::AID-HUMU2>3.0.CO;2-K.
- TruSight One Sequencing Panel Series. Reference Guide. 2018. Available at: https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/

- documents/documentation/chemistry_documentation/trusight_one/trusight-one-sequencing-panel-reference-guide-15046431-03.pdf. Accessed 25 Apr 2019.
- Richards S., Aziz N., Bale S., Bick D., Das S., Gastier-Foster J. et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in Medicine* 2015;17:405–423. doi:10.1038/gim.2015.30.
- Ryzhkova O.P., Kardymon O.L., Prohorchuk E.B., Konovalov F.A., Maslennikov A.B., Stepanov V.A., i dr. Rukovodstvo po interpretatsii dannykh posledovatel'nosti DNK cheloveka, poluchennykh metodami massovogo parallel'nogo sekvenirovaniya (MPS) (Redaktsiya 2018, versiya 2) [Guidelines for the interpretation of massive parallel sequencing variants (update 2018, v.2)]. Medicinskaya Genetika [Medical Genetics] 2018;18:3–23 (In Russ)
- Alvarez C.M., De Vera M.A., Heslip T.R., Casey B. Evaluation of the Anatomic Burden of Patients with Hereditary Multiple Exostoses: *Clinical Orthopaedics and Related Research* 2007;462:73

 –79. doi:10.1097/BLO.0b013e3181334b51.
- Pedrini E., De Luca A., Valente E.M., Maini V., Capponcelli S., Mordenti M., et al. Novel EXT1 and EXT2 mutations identified by DH-PLC in Italian patients with multiple osteochondromas. *Human Mutation* 2005;26:280–280. doi:10.1002/humu.9359.
- Jennes I., Pedrini E., Zuntini M., Mordenti M., Balkassmi S., Asteggiano C.G., et al. Multiple osteochondromas: mutation update and description of the multiple osteochondromas mutation database (MOdb). *Human Mutation* 2009;30:1620–1627. doi:10.1002/humu.21123.
- Alvarez C., Tredwell S., De Vera M., Hayden M. The genotype-phenotype correlation of hereditary multiple exostoses. *Clinical Genetics* 2006;70:122–130. doi:10.1111/j.1399-0004.2006.00653.x.
- Pacifici M. Hereditary Multiple Exostoses: New Insights into Pathogenesis, Clinical Complications, and Potential Treatments. *Current Osteoporosis Reports* 2017;15:142–152. doi:10.1007/s11914-017-0355-2.
- Lagunova I.G. Kliniko-rentgenologicheskaya diagnostika displaziy skeleta: monografiya. [Clinical and radiological diagnosis of skeletal dysplasia: a monograph]. M.: Medicina [M.: Medicine]. 1989. –256 p. (In Russ.)