

Главный редактор
ГИНТЕР Е.К.
академик РАН, д.б.н., профессор
Заместители главного редактора
ПУЗЫРЕВ В.П.
академик РАН, д.м.н., профессор
БАРАНОВ В.С.
чл.-корр. РАН, д.м.н., профессор
Ответственный секретарь
ИЖЕВСКАЯ В.Л.
д.м.н.

Редакционная коллегия
АРЧАКОВ А.И.
академик РАН, д.б.н., профессор
ВОЕВОДА М.И.
чл.-корр. РАН, д.м.н., профессор
ДУРНЕВ А.Д.
чл.-корр. РАН, д.м.н., профессор
ИВАНОВ В.П.
д.б.н., профессор
ИЛЛАРИОШКИН С.Н.
д.м.н., профессор
КОЗЛОВА С.И.
д.м.н., профессор
КОПНИН Б.П.
д.б.н., профессор
КУЦЕВ С.И.
д.м.н.

КУЧИНСКАС В. (Kucinskas V.)
академик Литовской АН, д.б.н., профессор
ЛИМБОРСКАЯ С.А.
д.б.н., профессор
МАЦЕК М. (Macek M. Jr.)
доктор медицины и педиатрии (MD),
доктор философии по медицине и молекуляр-
ной генетике (PhD), профессор
МИХАЙЛОВА Л.К.
д.м.н., профессор
НАЗАРЕНКО Л.П.
д.м.н., профессор
НОВИКОВ П.В.
д.м.н., профессор
НОСИКОВ В.В.
д.б.н., профессор
РОГАЕВ Е.И.
д.б.н., профессор
РУБЦОВ Н.Б.
д.б.н., профессор
СВЕРДЛОВ Е.Д.
академик РАН, д.б.н., профессор
СЕРЕДЕНИН С.Б.
академик РАН, д.м.н., профессор
СМИРНОВ В.Н.
академик РАН, д.м.н., профессор
СТЕПАНОВ В.А.
д.б.н., профессор
ХУСНУТДИНОВА Э.К.
д.б.н., профессор
ЧЕХОНИН В.П.
академик РАН, д.б.н., профессор
ЧУЧАЛИН А.Г.
академик РАН, д.м.н., профессор

Издатель:
ООО «Издательство «Гениус Медиа»
E-mail: genius-media@mail.ru

Адреса редакции:
115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1,
Федеральное государственное
бюджетное учреждение
Медико-генетический научный центр РАМН
Тел. (499) 612-81-07, факс: 324-07-02
E-mail: L_Tarlycheva@med-gen.ru

Внимание авторов и читателей:
Рукописи и иллюстрации не возвращаются. При
перепечатке материалов согласование с редак-
цией журнала «Медицинская генетика» обяза-
тельно. За содержание рекламных публикаций ответст-
венность несет рекламодатель.

© Российское общество медицинских генетиков
© Российская академия медицинских наук
© Медико-генетический научный центр РАМН
© ООО «Издательство «Гениус Медиа»

Тираж 200 экз.

Медицинская ГЕНЕТИКА

Ежемесячный рецензируемый научно-практический журнал

2014 г. Том 13. №12 (150)

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Зинченко Р.А., Ельчинова Г.И., Васильева Т.А.,
Петрова Н.В., Петрин А.Н., Гинтер Е.К.**
Медико-генетическое изучение населения Республики Татарстан.
Сообщение VIII.
Анализ основных факторов микроэволюционного процесса
в формировании груза и разнообразия наследственной патологии
и в дифференциации субпопуляций 3
- Топчиева Л.В., Малышева И.Е., Курбатова И.В.,
Корнева В.А., Степанова А.И., Немова Н.Н.**
Анализ ассоциации полиморфного маркера -308G>A гена *TNF*
с развитием эссенциальной артериальной гипертензии
у жителей Карелии 11
- Амарян Г.Г., Саркисян Т.Ф., Айрапетян А.С., Тадевосян А.Э.**
Клинические и генетические корреляции
при периодической болезни у детей в Армении 16
- Золотухина Т.В., Канивец И.В., Коростелев С.А.,
Шилова Н.В., Миньженкова М.Е., Козлова Ю.О.,
Демина Н.А., Бессонова Л.А., Галкина В.А., Маркова Ж.Г.**
Опыт использования комплекса современных методов исследования
в конституциональной цитогенетике 22
- Голивец Л.Т., Круглова О.В., Гусарова Е.А.,
Цыганкова П.Г., Захарова Е.Ю.**
Селективный скрининг на болезнь Фабри 29
- Кит О.И., Водолажский Д.И., Двадненко К.В., Гудуева Е.Н.,
Кутилин Д.С., Геворкян Ю.А., Владимирова Л.Ю.**
Частота мутаций в гене *KRAS*
в различных клинических группах пациентов Юга России
с колоректальным раком 35

ИНФОРМАЦИЯ

- Содержание журнала «Медицинская генетика» в 2013 г. 42
- Алфавитный указатель
авторов журнала «Медицинская генетика» в 2013 г. 46
- Правила оформления статей
в журнале «Медицинская генетика» 50

Editor-in-Chief
GINTER E.K.
Deputy Editors-in-chief
PUZYREV V.P.
BARANOV V.S.

Executive editor
IZHEVSKAYA V.L.

Editorial Board
ARCHAKOV A.I.
VOEVODA M.I.
DURNEV A.D.
IVANOV V.P.
ILLARIOSHKIN S.N.
KOZLOVA S.I.
KOPNIN B.P.
KUTZEV S.I.
KUCINSKAS V.
LIMBORSKAYA S.A.
MACEK M. Jr.
MIKHAYLOVA L.K.
NAZARENKO L.P.
NOVIKOV P.V.
NOSIKOV V.V.
ROGAEV E.I.
RUBTZOV N.B.
SVERDLOV E.D.
SEREDENIN S.B.
SMIRNOV V.N.
STEPANOV V.A.
KHUSNUTDINOVA E.K.
CHEKHONIN V.P.
CHUCHALIN A.G.

Publisher:
Genius Media Publishing Ltd
E-mail: genius-media@mail.ru

Medical GENETICS

Monthly reviewed scientific and practical journal

2014. Volume 13. №12 (150)

Content

ARTICLES

- Zinchenko R.A., Elchinova G.I., Bessonova L.A., Petrova N.A., Petrin A.N., Ginter E.K.**
Medical-genetic study of the Tatarstan Republic.
VIII. Analysis of the main factors of microevolution process in the formation load and diversity of hereditary diseases, as well as in the differentiation of subpopulations.....3
- Topchieva L.V., Malysheva I.E., Kurbatova I.V., Korneva V.A., Stepanova A.I., Nemova N.N.**
The analysis of the association of -308G>A polymorphic marker of the *TNF* gene with the development of essential hypertension in Karelian inhabitants11
- Amaryan G.G., Sarkisian T.F., Hayrapetyan H.S., Tadevosyan A.E.**
Phenotype-genotype correlations in Armenian children with familial Mediterranean fever.....16
- Zolotukhina T.V., Kanivets I.V., Korostelev S.A., Shilova N.V., Minzhenkova M.E., Kozlova Y.O., Demina N.A., Bessonova L.A., Galkina V.A., Markova Zh.G.**
The use of a complex of modern methods of research in constitutional cytogenetics22
- Golivets L.T., Kruglova O.V., Gusarova E.A., Tsigankova P.V., Zakharova E.Yu.**
Selective screening for Fabry disease.....29
- Kit O.I., Vodolazhsky D.I., Dvadnenko K.V., Gudueva E.N., Kutilin D.S., Gevorgyan Y.A., Vladimirova L.Yu.**
Frequency of *KRAS* gene mutations in different clinical subgroups of patients with colorectal cancer in the Southern region of Russia35

INFORMATION

- The content of Journal «Medical Genetics» in 2013.....42
Authors index in 2013.....46
Guidelines for Authors50

Медико-генетическое изучение населения Республики Татарстан. Сообщение VIII. Анализ основных факторов микроэволюционного процесса в формировании груза и разнообразия наследственной патологии и в дифференциации субпопуляций*

Зинченко Р.А.^{1,2}, Ельчинова Г.И.¹, Васильева Т.А.¹, Петрова Н.В.¹, Петрин А.Н.^{3,4}, Гинтер Е.К.¹

¹ — Федеральное государственное бюджетное учреждение «Медико-генетический научный центр» Российской академии медицинских наук, Москва, 115478, ул. Москворечье д.1, e-mail: ekginter@mail.ru

² — Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский национальный медицинский университет им. Н.И.Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, 117997, ул. Островитянова, д. 1, e-mail: renazinchenko@mail.ru

³ — Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, 127473, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1, e-mail: a.petrin@mail.ru

⁴ — Федеральное государственное учреждение Научно-практический центр медицинской помощи детям с пороками развития черепно-лицевой области и врожденными заболеваниями нервной системы Департамента здравоохранения г.Москвы, Москва, 119620, ул. Авиаторов, д. 38, e-mail: a.petrin@mail.ru

Представлены обобщённые результаты комплексного изучения генетической структуры татарской популяции (Арский, Атнинский, Кукморский, Буинский, Дрожжановский, Актанышский, Муслумовский и Мензелинский) через различные генетические системы: гены аутосомно-доминантной (АД), аутосомно-рецессивной (АР) и X-сцепленной (X-сц.) наследственных патологии и небиологические параметры методами популяционной статистики (индекс Кроу, параметры изоляции расстоянием Малеко, этническая ассортативность, индекс миграций, случайный инбридинг F_{ST}). Численность татарского населения составила 209 265 чел. На основе изучения корреляций предположено, что основной причиной генетической дифференциации татарской популяций по грузу и разнообразию (АД, АР и X-сц.) наследственными болезнями являются дрейф генов и миграционные процессы.

Ключевые слова: генетическая эпидемиология, дрейф генов, миграции, мутации, естественный отбор, груз и разнообразие моногенной наследственной патологии, татары Республики Татарстан

Введение

Среди направлений современной медицины клиническая популяционная генетика занимает особое место, так как позволяет ответить на некоторые вопросы об эволюции популяций человека, оценить особенности генофонда, груза и разнообразия наследственной патологии, то есть совокупную наследственную информацию, которая передаётся от родителей к потомкам и сохраняется во времени в условиях нормально эволюционирующей среды. Таким образом, клиническая популяционная генетика позволяет оценить поведение генов в популяциях человека, изучить, как реализуются зако-

ны Менделя на уровне популяций, и как влияют на её генетическую структуру факторы микроэволюционных процессов (мутационный процесс, отбор, миграции, инбридинг, дрейф генов) [3, 19].

Лабораторией генетической эпидемиологии ФГБУ «МГНЦ» РАМН в течение ряда десятилетий проводятся исследования в европейской части России по клинической популяционной генетике. К настоящему времени обследовано население 12 регионов России: Ростовской, Тверской, Брянской, Кировской, Костромской, Архангельской областей, Краснодарского края, Республик Адыгея, Марий Эл, Башкортостан, Чуваш-

* Работа выполнена при частичном финансировании РФФИ (№14-04-00525-а, 14-04-10075-к, 12-04-00122-а).

шии, Удмуртии. Во всех популяциях оценены значения груза и описано разнообразие АД, АР и Х-сц. наследственной патологии. Проведённые исследования показали, что наблюдается значительная вариация в значениях груза моногенных наследственных болезней (МНБ) между различными популяциями/этнотами. Наибольшие различия выявлены при сравнении отягощённости МНБ городского и сельского населения региона, однако весьма значительные колебания параметров груза определены и внутри групп «город» и «село». Например, отягощённость населения городов и райцентров варьировала в пределах — от 0,55/1000 (АД — 0,33/1000, АР — 0,22/1000 чел.) в пгт Макарьево Костромской области до 6,39/1000 (АД — 3,68/1000, АР — 1,55/1000 чел. и Х-сц. — 1,16/1000 мужчин) в пгт Свеча Кировской области. В сельских субпопуляциях наблюдалась более выраженная дифференциация груза МНБ — от 1,47/1000 (АД — 0,85/1000, АР — 0,62/1000 чел.) у населения Немского района до 9,47/1000 (АД — 5,81/1000, АР — 1,94/1000 чел. и Х-сц. — 1,72/1000 мужчин) в Свечинском районе Кировской области. Было определено, что чем ниже иерархический уровень популяции, тем большие различия в грузе МНБ обнаруживаются между субпопуляциями. Максимальные различия наблюдались между сельскими советами/поселениями. Например, в Шарканском районе Республики Удмуртия распространённость МНБ в различных сельских поселениях численностью 500—1000 чел. варьировала от 0 до 17/1000 чел.; в Кугарчинском районе Республики Башкортостан от 0 до 21/1000 чел. [1, 8, 14—16].

Различия обнаружены и в нозологическом спектре МНБ, проявляющиеся как в различном количестве нозологических форм (разнообразии, нормирование на численность популяции), так и в наличии локального накопления отдельных нозологий [10—12].

Причины выявленной дифференциации в значениях отягощённости и разнообразия населения МНБ в большей мере связаны с особенностями генетической структуры и историей формирования популяций/этнотам. В результате анализа основных параметров генетической структуры было показано, что для большинства регионов европейской части РФ формирование основных медико-генетических характеристик определяется сложным взаимодействием между различными факторами микроэволюции, включая генетический дрейф, естественный отбор и миграционные процессы. Ведущая роль в дифференциации популяций по грузу и разнообразию МНБ принадлежит генетическому дрейфу [1, 8, 9—12, 14—16]. В случае с АР заболеваниями наличие подразделённости популяций и увеличение значений случайного инбридинга в ограниченной по численности изолированной популяции может привести к ряду последовательных процессов. Основными являются повышение выплывания гомозигот и, как следствие, увеличение частоты какого-либо гена при переходе от одного

поколения к другому и суммарного груза АР патологии. В отношении АД патологии дифференциация в значениях груза между популяциями объясняется различной степенью изолированности, снижением миграционной активности населения, и как следствие, к выраженной подразделённости и накоплению как отдельных форм наследственной патологии, так и отягощённости, в целом [7, 10—12].

В одной из более ранних публикаций по генетико-эпидемиологическому исследованию населения Республики Татарстан (РТ) показана роль основных факторов популяционной динамики (генетического дрейфа и миграций) в дифференциации отягощённости всего населения пяти районов аутосомными МНБ [3]. Настоящее сообщение посвящено анализу роли основных факторов микроэволюции (естественному отбору, миграциям, брачной ассортативности, дрейфу генов) в дифференциации татарского населения восьми районов РТ по грузу и разнообразию МНБ.

Материалы и методы

Проведено генетико-эпидемиологическое исследование населения восьми районов РТ (264 310 чел.). В настоящей статье анализируются закономерности формирования медико-генетических характеристик среди татарского населения следующих районов РТ: Арский (47 794 татар), Атнинский (13 773), Кукморский (35 213), Буинский (29 320), Дрожжановский (15 682), Актанышский (30 940), Муслумовский (18 245) и Мензелинский (18 299). Суммарная численность обследованного татарского населения восьми районов составила 209 266 чел.

Для возможности выяснения генетико-демографических механизмов, определяющих генетическую дифференциацию татарских популяций по грузу и разнообразию МНБ во всех обследованных районах, наряду с медико-генетическим проведено популяционно-генетическое обследование населения (протокол генетико-эпидемиологических исследований ФГБУ «МГНЦ» РАМН), результаты которого представлены в наших более ранних публикациях по РТ [2—7, 13].

Для анализа влияния основных факторов популяционной динамики (мутационный процесс, миграции, генетический дрейф, брачная ассортативность, естественный отбор) на медико-генетические характеристики во всех восьми районах Республики использованы следующие данные, рассчитанные для татарского населения:

1) груз и разнообразие МНБ среди татарского населения восьми районов [2—4, 13];

2) для оценки мутационного процесса в популяции восьми районов использован первичный материал — данные о семьях с точно установленным АД заболеванием со здоровыми родителями и предками более ранних поколений [19];

3) индекс эндогамии (ИЭ), индекс миграционной активности населения i_m , брачная этническая ассортативность, локальный инбридинг (a). Локальный инбридинг (a) оценен через модель изоляции расстоянием Малеко. Данные получены на основании анализа 19 963 брачных записей из отделов ЗАГСов за период 1990—2000 гг. [5—7]. Индекс миграционной активности населения i_m , рассчитан как: $i_m = 1 - \text{ИЭ}$; где ИЭ — индекс эндогамии.

4) случайный инбридинг F_{st} . Случайный инбридинг рассчитан из списков избирателей (тотально) по данным о частотах фамилий [5]. Использованы данные, как для популяций ранга «район», так и средневзвешенные значения для городских и сельских популяций;

5) индекс Кроу и его составляющие (индекс дифференциальной смертности — I_m , индекс дифференциальной плодовитости — I_f , индекс тотального отбора — I_{tot}) оценены на основании 1692 демографических анкет от женщин пострепродуктивного возраста. Анкетирование женщин проведено работниками местного здравоохранения по нашей просьбе [5—7].

Для оценки возможной роли особенностей генетической структуры в формировании нозологического спектра МНБ проведён корреляционный анализ для каждого типа наследственной патологии. Рассчитан индекс разнообразия МНБ среди татарского населения восьми районов. Расчёт индекса разнообразия проведён как отношение абсолютного числа нозологических форм с определённым типом наследования в конкрет-

ном районе к численности обследованного района (на 1000 обследованных). Индекс разнообразия для X-сц. патологии рассчитан на 1000 мужчин. Для проведения корреляционного анализа использованы значения случайного инбридинга F_{st} , локального инбридинга a и данные о нозологическом спектре МНБ в ранге «район» [5—7].

Анализ регрессионной зависимости (по Пирсону) между основными параметрами генетической структуры и медико-генетическими характеристиками выполнен с использованием программного пакета «Statistica 10» (уровень значимости $p \leq 0,05$).

Результаты и обсуждение

В результате генетико-эпидемиологического изучения татарского населения восьми районов РТ было показано, что наблюдается вариация в значениях груза МНБ от 2,77/1000 (АД — 1,66/1000, АР — 0,83/1000 чел. и X-сц. — 0,28/1000 мужчин) у татар г.Мензелинска до 12,98/1000 (АД — 7,12/1000, АР — 3,35/1000 чел. и X-сц. — 2,12/1000 мужчин) у татар сельчан Атнинского района [4]. Для возможности объяснения дифференциации между субпопуляциями в значениях груза и разнообразия МНБ, были количественно оценены различные факторы популяционной динамики (мутационный процесс, отбор, миграции, инбридинг, дрейф генов).

Таблица 1
Основные параметры генетической структуры у татарского населения восьми районов Республики Татарстан: груз (на 1000 чел.) АД, АР и X-сц. МНБ, случайный инбридинг F_{st} , локальный инбридинг a , индекс i_m , параметры индекса Кроу (I_m , I_f , I_{tot})

№	Популяция	Числ.	Груз			F_{st}	a	i_m	Параметры индекса Кроу		
			АД	АР	X-сц.				I_m	I_f	I_{tot}
1	Арский р-н	32 960	3,58	1,33	0,55	0,00269	0,00601	0,34	0,012	0,112	0,126
2	Атнинский р-н	9552	7,12	3,35	2,51	0,00335	0,00594	0,44	0,017	0,160	0,180
3	Кукморский р-н	26 890	2,67	2,03	1,03	0,00290	0,00566	0,28	0,018	0,192	0,215
4	Буинский р-н	15 222	6,64	3,02	1,05	0,00346	0,00790	0,38	0,060	0,191	0,263
5	Дрожжановский р-н	12 752	4,78	3,22	0,47	0,00338	0,00693	0,30	0,015	0,169	0,187
6	Актанышский р-н	20 795	5,58	2,89	1,06	0,00253	0,00726	0,23	0,015	0,181	0,199
7	Муслимовский р-н	10 329	5,13	2,90	1,94	0,00295	0,00794	0,23	0,033	0,198	0,238
8	Мензелинский р-н	11 082	4,42	2,36	1,02	0,00313	0,00933	0,48	0,022	0,219	0,247
9	г.Арск	14 834	1,95	0,94	1,08	0,00082	0,00034	0,83	0,010	0,210	0,220
10	пгт.Атня	4221	4,26	2,13	0,00	0,00201	0,00147	0,91	—	—	—
11	г.Кукмор	12 007	2,25	1,33	0,33	0,00071	0,00047	0,79	—	—	—
12	г.Буинск	14 098	1,63	0,99	0,14	0,00059	0,00032	0,80	—	—	—
13	пгт.Ст.Дрожжаное	3436	2,39	1,02	1,37	0,00119	0,00140	0,94	0,030	0,200	0,230
14	пгт.Актаныш	10 145	1,58	0,99	1,18	0,00090	0,00085	0,88	0,010	0,120	0,130
15	пгт.Муслимово	7916	2,02	1,77	0,76	0,00090	0,00078	0,87	0,050	0,120	0,180
16	г.Мензелинск	7217	1,66	0,83	0,28	0,00043	0,00043	0,86	0,040	0,110	0,160

Примечание. Числ. — численность; груз рассчитана на 1000 чел.; a — локальный инбридинг; i_m — индекс миграционной активности населения

**Изучение роль микроэволюционных процессов
в формировании груза МНБ у татарского населения**

В табл. 1 представлены данные о грузе АД, АР и Х-сц. МНБ и основных параметрах генетической структуры среди татарского населения восьми районов: случайный инбридинг F_{st} , локальный инбридинг a , индекс миграционной активности i_m , параметры индекса Кроу (I_m — индекс дифференциальной смертности, I_f — индекс дифференциальной плодовитости, I_{tot} — индекс максимально возможного отбора).

Миграционные характеристики и дрейф генов

Значения случайного инбридинга F_{ST} и локального инбридинга a являются количественной мерой действия генетического дрейфа. Индекс i_m характеризует степень миграционной активности населения и изолированности популяций. Для возможности оценки, насколько различные характеристики генетической структуры населения взаимодействуют между собой, проведён корреляционный анализ.

Анализ регрессионной зависимости между двумя оценками инбридинга — случайный инбридинг F_{st} и локальный инбридинг a положительна и значима, составляет $r = 0,93 \pm 0,098$, между локальным инбридингом a и индексом миграционной активности $r = -0,93 \pm 0,115$, между случайным инбридингом F_{st} и индексом миграционной активности населения $r = -0,85 \pm 0,140$ (табл. 2). Обращает на себя внимание очень высокий коэффициент корреляции ($r = 0,92 \pm 0,105$) между грузом АД и АР патологии. Коэффициенты корреляции между грузом АД и Х-сц, АР и Х-сц. патологии невысоки, но статистически значи-

мы ($r = 0,50 \pm 0,23$ и $r = 0,45 \pm 0,24$ соответственно). Полученные данные говорят о том, что популяция представляет собой единую систему, в которой все характеристики взаимосвязаны. Важно, что изучаемые характеристики оценены различными методами и через различный первичный материал.

Статистически значимые высокие коэффициенты корреляций (рис. 1 А—Е) получены при проведении регрессионной зависимости между показателями отягощённости АД и АР патологией и значениями случайного инбридинга F_{st} ($r = 0,86 \pm 0,136$ и $r = 0,88 \pm 0,127$, соответственно) и локального инбридинга a ($r = 0,79 \pm 0,163$ и $r = 0,81 \pm 0,157$ соответственно). В случае Х-сц. патологии получены низкие, но статистически значимы коэффициенты корреляции между грузом Х-сц. патологии и показателями F_{st} и a ($r = 0,43 \pm 0,241$ и $r = 0,42 \pm 0,242$ соответственно).

Проведённый анализ корреляций выявил следующие закономерности, представленные в табл. 2 и на рис. 1 и 2.

Коэффициент линейной корреляции между уровнем отягощённости татар АД, АР и Х-сц. МНБ патологией и индексом миграций i_m , характеризующим уровень изолированности и миграционную активность населения, составили $r = -0,69 \pm 0,19$, $r = -0,75 \pm 0,18$, и $r = -0,37 \pm 0,25$ соответственно (рис. 2 А, Б, В). Полученные результаты демонстрируют, что чем ниже уровень миграционной активности населения и, следовательно, выше изолированность населения, тем выше показатели груза аутосомной патологии. Полученный коэффициент для Х-сц. заболеваний показывают только наличие тенденций, статистически недостоверных.

Таблица 2

Коэффициенты корреляции между различными параметрами генетической структуры популяций Республики Татарстан

Изучаемые параметры	Коэффициент корреляции
Случайный инбридинг F_{ST} — локальный инбридинг a	$0,93 \pm 0,096$
Случайный инбридинг F_{ST} — индекс миграционной активности i_m	$-0,85 \pm 0,140$
Локальный инбридинг a — индекс миграционной активности i_m	$-0,90 \pm 0,115$
Груз АД патологии — груз АР патологии	$0,92 \pm 0,105$
Груз АД патологии — груз Х-сц. патологии	$0,50 \pm 0,231$
Груз АР патологии — груз Х-сц. патологии	$0,45 \pm 0,239$
Индекс миграционной активности i_m — груз АД патологии	$-0,69 \pm 0,192$
Индекс миграционной активности i_m — груз АР патологии	$-0,75 \pm 0,178$
Индекс миграционной активности i_m — груз Х-сц. патологии	$-0,37 \pm 0,248$
Случайный инбридинг F_{ST} — груз АД патологии	$0,86 \pm 0,136$
Случайный инбридинг F_{ST} — груз АР патологии	$0,88 \pm 0,127$
Случайный инбридинг F_{ST} — груз Х-сц. патологии	$0,43 \pm 0,241$
Локальный инбридинг a — груз АД патологии	$0,79 \pm 0,163$
Локальный инбридинг a — груз АР патологии	$0,81 \pm 0,157$
Локальный инбридинг a — груз Х-сц. патологии	$0,42 \pm 0,242$

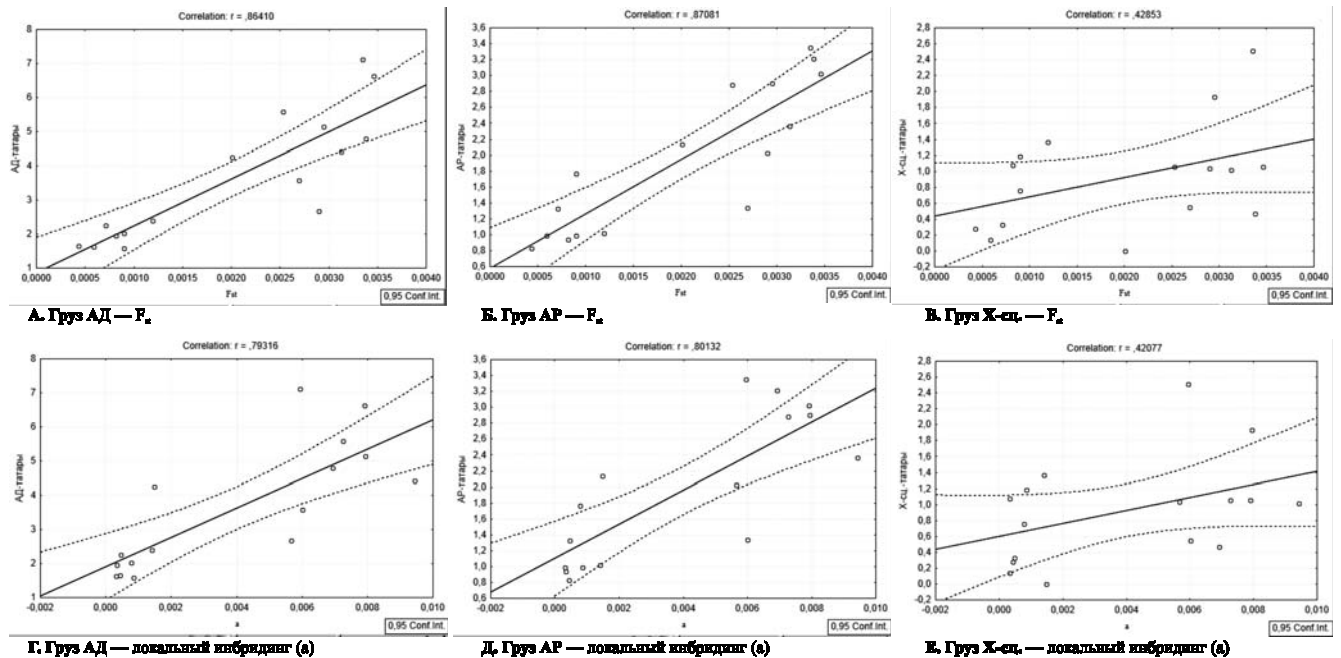


Рис. 1. Результаты корреляционного анализа между грузом АД, АР, Хсц. МНБ у татар и случайным инбридингом (А, Б, В), локальным инбридингом (Г, Д, Е).

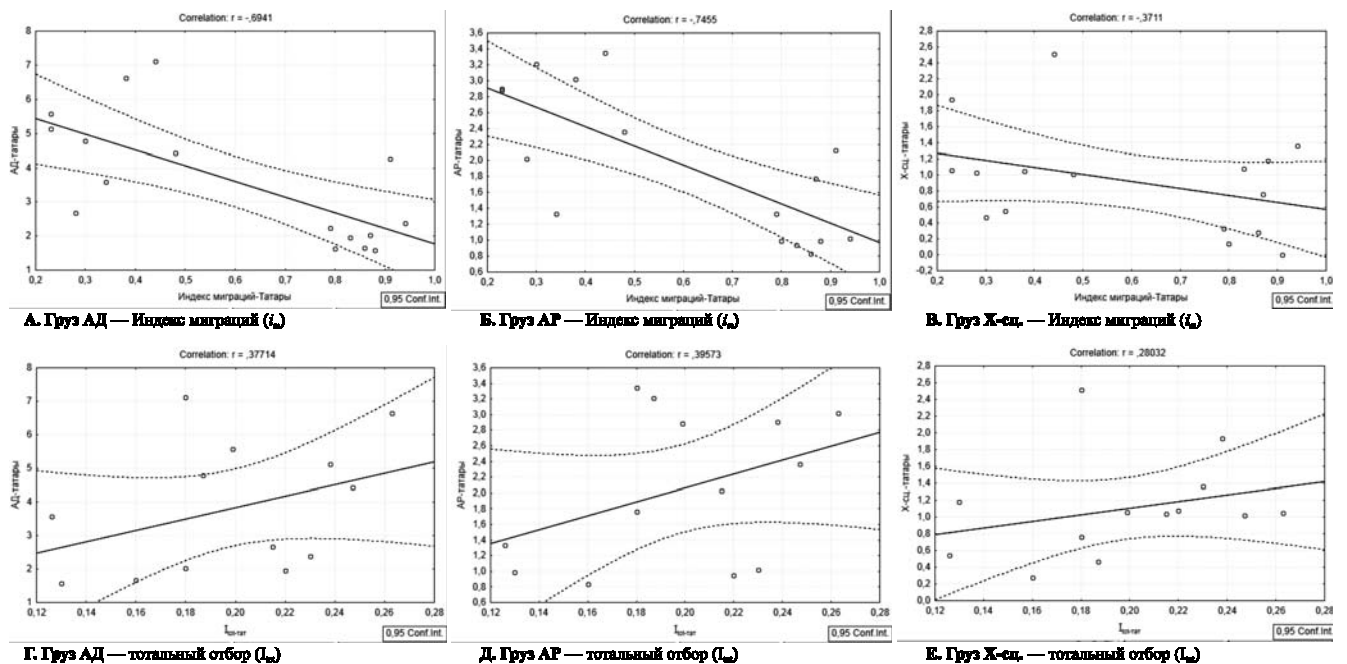


Рис. 2. Результаты корреляционного анализа между грузом АД, АР, Хсц. МНБ у татар и миграционной активностью населения (А, Б, В,) и естественным отбором I_{tot} (Г, Д, Е).

Таблица 3

Коэффициенты корреляции между различными параметрами индекса Кроу и его составляющих и грузом МНБ в популяциях Республики Татарстан

Изучаемые параметры	Коэффициент корреляции
Тотальный отбор I_{tot} — груз АД патологии	$0,38 \pm 0,248$
Тотальный отбор I_{tot} — груз АР патологии	$0,40 \pm 0,245$
Тотальный отбор I_{tot} — груз Х-сц. патологии	$0,28 \pm 0,257$
Индекс фертильности I_f — груз АД патологии	$0,34 \pm 0,251$
Индекс фертильности I_f — груз АР патологии	$0,35 \pm 0,250$
Индекс фертильности I_f — груз Х-сц. патологии	$0,37 \pm 0,248$
Индекс смертности I_m — груз АД патологии	$0,11 \pm 0,266$
Индекс смертности I_m — груз АР патологии	$0,11 \pm 0,266$
Индекс смертности I_m — груз Х-сц. патологии	$0,11 \pm 0,266$

Таблица 4

Абсолютное число нозологических форм (АД, АР, Х-сц.), индексы разнообразия, случайный инбридинг F_{st} , локальный инбридинг

Район	Числ.	АД		АР		Х-сц.		F_{st}	a^*	i_m	Компоненты индекса Кроу		
		Ч.форм	ИР	Ч.форм	ИР	Ч.форм	ИР				I_m	I_f	I_{tot}
Арский	47 794	38	0,795	23	0,481	8	0,335	0,00088	0,00012	0,38	0,012	0,192	0,215
Атнинский	13 773	30	2,178	21	1,525	8	1,162	0,00163	0,0004	0,44	0,017	0,160	0,180
Кукмор-ский	35 213	36	1,022	25	0,710	7	0,398	0,00072	0,00013	0,33	0,018	0,112	0,126
Буинский	29 320	34	1,160	18	0,614	4	0,273	0,00058	0,00016	0,43	0,060	0,191	0,263
Дрожжа-новский	15 682	16	1,020	14	0,893	3	0,383	0,00062	0,00028	0,30	0,015	0,169	0,187
Актаныш-ский	30 940	41	1,325	19	0,614	5	0,323	0,00081	0,00019	0,26	0,015	0,191	0,199
Муслю-мовский	18 245	25	1,370	22	1,206	6	0,658	0,00075	0,00027	0,38	0,033	0,198	0,238
Мензе-линский	18 299	23	1,257	14	0,765	3	0,328	0,00042	0,00017	0,50	0,020	0,220	0,250

Примечание. Числ. — численность населения; Ч.форм — абсолютное число форм; ИР — индекс разнообразия

Мутационный процесс

Распространённость мутаций «*de novo*» в изученных районах оценена прямым методом [19]. Значения распространённости мутаций «*de novo*» не различаются по районам РТ и по своим абсолютным значениям близка к данному показателю в ранее обследованных популяциях европейской части России ($\chi^2 = 1,69$, D.f. = 9, $P > 0,05$). Средняя частота мутаций «*de novo*» на локус на поколение составила $0,498 \times 10^{-5}$.

Естественный отбор

Учитывая, что больные с МНБ, особенно с АР и Х-сц. патологией, могут иметь более низкую приспособленность, чем в среднем по популяции, проведен анализ корреляционной зависимости между значениями индекса максимально возможного отбора (индекса Кроу и

его составляющих) и отягощённостью татар АР, АД и Х-сц. патологией в исследованных районах РТ.

Результаты анализа представлены в табл. 3 и на рис. 2 (Г, Д, Е). Статистически значимых корреляций между изученными параметрами не выявлено, как и не выявлено достоверных различий между городским и сельским населением по показателям индекса Кроу. Показатели индекса Кроу и его компонентов в татарском населении составили: для сельского населения районов $I_m = 0,025$, $I_f = 0,184$, $I_{tot} = 0,214$, для городского населения $I_m = 0,024$, $I_f = 0,214$, $I_{tot} = 0,244$ [5]. Это предполагает, что давление естественного отбора на популяцию незначительно, и данный фактор микроэволюции не является определяющим в различиях по грузу МНБ между популяциями. Необходимо отметить, что за последние 100 лет индекс дифференциальной смертности (I_m) уменьшился более чем в 10 раз, а индекс дифференциальной плодовитости (I_f) снизился на треть [5, 18].

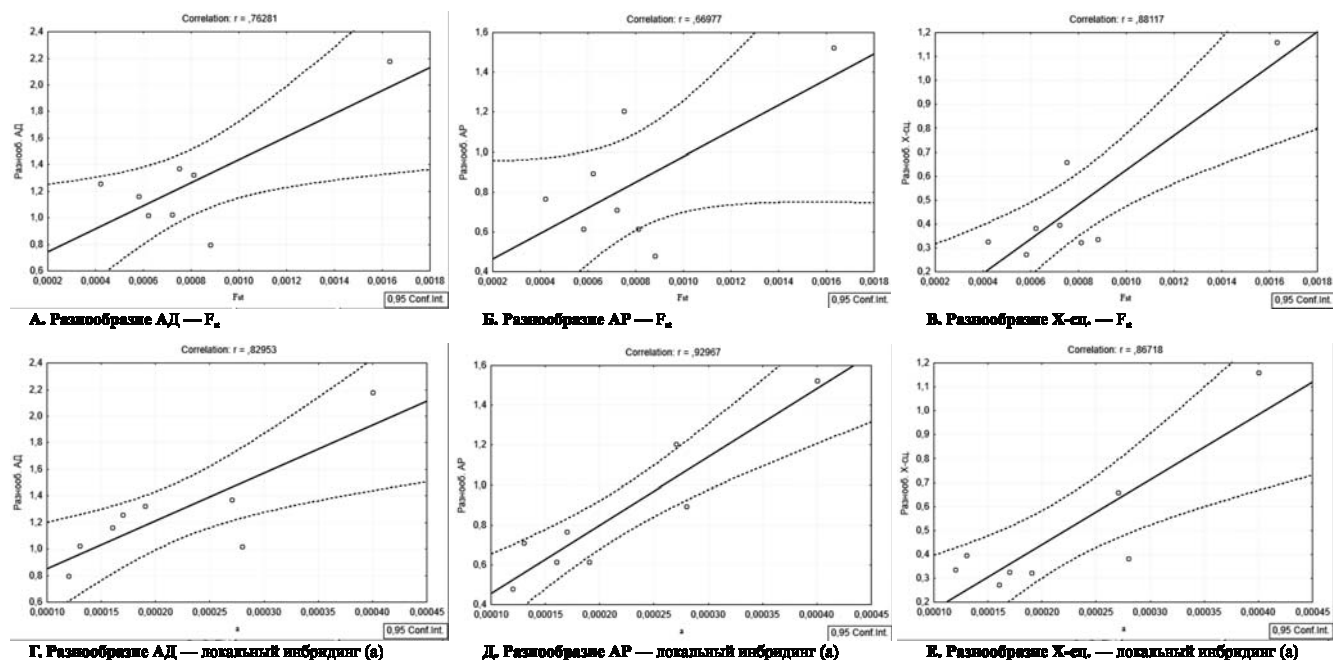


Рис. 3. Результаты корреляционного анализа между разнообразием АД, АР, Хсц. МНБ у татар и и случайным инбридингом (А, Б, В.), локальным инбридингом (Г, Д, Е).

Изучение роли микроэволюционных процессов в формировании нозологического спектра МНБ у татарского населения

Получив достоверные доказательства того, что величина груза МНБ в популяции татар находится под ведущим влиянием эффективного дрейфа, логично было бы оценить возможное влияние дрейфа генов на нозологический спектр МНБ.

Проведён корреляционный анализ зависимости разнообразия МНБ от генетической структуры изученных районов. Учитывая, что численность районов различна, абсолютное число нозологических форм с каждым типом наследования (АД, АР, Х-сц.) нормировано на численность соответствующей популяции, в результате чего получен индекс разнообразия. В табл. 4 представлено абсолютное число нозологических форм (АД, АР, Х-сц.), индексы разнообразия, случайный инбридинг F_{st} , локальный инбридинг. Все характеристики представлены в ранге «район», наиболее приемлемые при описании разнообразия МНБ. Коэффициенты корреляции между индексом разнообразия АД, АР и Х-сц. МНБ и случайным инбридингом (F_{st}) составили $r = 0,76 \pm 0,26$, $r = 0,67 \pm 0,30$ и $r = 0,88 \pm 0,19$ соответственно (рис. 3 А, Б, В). Ещё более высокие значения коэффициентов корреляций получены и при сопоставлении индексов разнообразия и значений локального инбридинга a $r = 0,83 \pm 0,23$, $r = 0,93 \pm 0,15$ и $r = 0,87 \pm 0,20$ соответственно (рис. 3 Г, Д, Е). Нужно отметить, что

при данном анализе получены высокие значения коэффициентов корреляции и для Х-сц. вида МНБ.

Таким образом, проведённые нами исследования позволили установить, что основным фактором микроэволюции, в наибольшей мере определяющим дифференциацию популяции татар РТ по грузу и разнообразию МНБ, является дрейф генов и степень изолированности обследованных популяций. Надо учитывать и небольшое влияние естественного отбора, давление которого в современном обществе значительно снижено. В этом отношении популяция татар не отличается от других популяций РФ и мира [8—10, 14—18, 20—21].

Список литературы

1. Амелина С.С., Шокарев Р.А., Кривенцова Н.В., Хлебникова О.В., Ельчинова Г.И., Зинченко Р.А. Генетико-эпидемиологическое изучение Ростовской области // Медицинская генетика. — 2005. — Т. 4, №8. — С. 371—377.
2. Гинтер Е.К., Галкина В.А., Бессонова Л.А., Дадали Е.Л., Хлебникова О.В., Кадышев В.В., Шаркова И.В., Гаврилина С.Г., Болотов В.А., Вафина З.И., Поляков А.В., Стрельников В.В., Залетаев Д.В., Зинченко Р.А. Медико-генетическое изучение населения Республики Татарстан. Сообщение I. Отягощенность моногенной наследственной патологией в трех районах проживания казанских татар // Медицинская генетика. — 2012. — Т. 12, №2. — С. 27—33.
3. Гинтер Е.К., Ельчинова Г.И., Петрин А.Н., Бессонова Л.А., Галкина В.А., Кадышев В.В., Гаврилина С.Г., Вафина З.И., Зинченко Р.А. Генетико-эпидемиологическое изучение моногенных наследственных болезней в Республике Татар-

стан: роль факторов популяционной динамики в дифференциации груза наследственной патологии в пяти районах // Генетика. — 2012. — Т. 48, №9. — С. 1105–1112.

4. Гинтер Е.К., Галкина В.А., Дадали Е.Л., Хлебникова О.В., Кадышев В.В., Гаврилина С.Г., Петрин А.Н., Михайлова Л.К., Ельчинова Г.И., Петрова Н.В., Васильева Т.А., Бессонова Л.А., Зинченко Р.А. Медико-генетическое изучение населения Республики Татарстан. VI. Отягощенность моногенной наследственной патологией в восьми районах // Медицинская генетика. — 2014. — Т. 13.

5. Ельчинова Г.И., Игумнов П.С., Зинченко Р.А., Гинтер Е.К. Медико-генетическое изучение населения Татарстана. Сообщение 3. Популяционно-генетическая характеристика // Медицинская генетика. — 2012. — Т. 48, №9. — С. 41–48.

6. Ельчинова Г.И., Симонов Ю.И., Вафина З.И., Зинченко Р.А. Эндогамия и изоляция расстоянием в Татарстане // Генетика. — 2011. — Т. 47, №8. — С. 1126–1130.

7. Ельчинова Г.И., Зинченко Р.А. Этническая брачная ассортативность сельского населения Татарстана // Генетика. — 2011. — Т. 47, №2. — С. 268–271.

8. Зинченко Р.А., Ельчинова Г.И., Гинтер Е.К. Факторы, определяющие распространение наследственных болезней в российских популяциях // Медицинская генетика. — 2009. — Т. 8, №12. — С. 7–23.

9. Зинченко Р.А., Ельчинова Г.И., Гинтер Е.К. Ассоциация между уровнем индекса эндогамии российских популяций, случайным инбридингом и отягощенностью наследственными болезнями // Медицинская генетика. — 2003. — Т. 2, №9. — С. 432–436.

10. Зинченко Р.А., Ельчинова Г.И., Поляков А.В., Гинтер Е.К. Особенности распространения наследственных болезней в различных популяциях России // Генетика. — 2007. — Т. 43, №9. — С. 1246–1254.

11. Зинченко Р.А., Ельчинова Г.И., Нурбаев С.Д., Гинтер Е.К. Разнообразие аутосомно-доминантных заболеваний

в российских популяциях // Генетика. — 2001. — Т. 37, №3. — С. 373–385.

12. Зинченко Р.А., Ельчинова Г.И., Гаврилина С.Г., Гинтер Е.К. Анализ разнообразия аутосомно-рецессивных заболеваний в российских популяциях // Генетика. — 2001. — Т. 37, №11. — С. 1536–1546.

13. Зинченко Р.А., Галкина В.А., Дадали Е.Л., Хлебникова О.В., Михайлова Л.К., Кадышев В.В., Гаврилина С.Г., Петрин А.Н., Ельчинова Г.И., Поляков А.В., Стрельников В.В., Залетаев Д.В., Васильева Т.А., Петрова Н.В., Захарова Е.Ю., Бессонова Л.А., Гинтер Е.К. Медико-генетическое изучение населения Республики Татарстан. VII. Разнообразие наследственной патологии в восьми районах // Медицинская генетика. — 2014. — Т. 13.

14. Кириллов А.Г., Зинченко С.П., Аbruкова А.В., Зинченко Р.А., Ельчинова Г.И., Поляков А.В., Гинтер Е.К. Наследственные болезни среди чувашей Республики Чувашия // Медицинская генетика. — 2007. — Т. 6, №1(55). — С. 19–27.

15. Медико-генетическое описание населения Адыгеи / Под ред. Е.К. Гинтера. — Майкоп, 1997. — 225 с.

16. Наследственные болезни в популяциях человека / Под ред. Е.К. Гинтера. — М.: Медицина, 2002. — 303 с.

17. Пузырев В.П., Эрдыниева Л.С., Кучер А.Н., Назаренко Л.П. Генетико-эпидемиологическое исследование населения Тувы. — Томск: СТУ, 1999. — 255 с.

18. Пузырев В.П., Назаренко Л.П. Генетико-эпидемиологическое исследование наследственной патологии в Западной Сибири. — Томск: СТУ, 2000. — 187 с.

19. Фогель Ф., Мотульски А. Генетика человека: в 3-х т. — М.: Мир, 1990. — Т. 2. — 378 с.

20. Canadian Congenital Anomalies Surveillance Network. Directory of Surveillance Systems. British Columbia: Health Status Registry (HSR) <http://www.phac-aspc.gc.ca/ccasn-rcsac/dss/bc-eng.php>, Updated: May, 2014.

21. Finnish Disease Database. <http://www.findis.org/>, Updated: May, 2014.

Medical-genetic study of the Tatarstan Republic. VIII. Analysis of the main factors of microevolution process in the formation load and diversity of hereditary diseases, as well as in the differentiation of subpopulations

Zinchenko R.A.^{1,2}, Elchinova G.I.¹, Bessonova L.A.¹, Petrova N.A.¹, Petrin A.N.^{3,4}, Ginter E.K.¹

¹ — Research Centre for Medical Genetics, Russian Academy of Medical Sciences, Russian Federation, Moscow, 115478, MoskvoRechje st., e-mail: renazinchenko@mail.ru, fax (499) 324-07-02

² — Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997, Russia

³ — Moscow State Medico-Stomatology University, Moscow, 127474, Russia

⁴ — Scientific and Practical Center of medical care for children, Moscow, 119620, Russia

Generalizing results of complex studying of genetic structure of the Tatar's population (Arsky, Athninsky, Kukmorsky, Buinsky, Drozhzhanovsky, Aktanyshky, Muslumovsky and Menzelinsky) through various genetic systems are submitted: AD genes, AR and X-linked of hereditary disease and methods of population statistics (Crow's index and its components, parameters of the model of isolation by distance of Malecot, ethnic assortativity, index of migrations, random inbreeding F_{ST}). By comparing of both studies it was proposed that the genetic drift and migrations is probable the factor which determined genetic differentiation of Tatar's populations by the load and diversity of hereditary diseases (AD, AR and X-linked).

Key words: genetic epidemiology, genetic drift, migration, mutation, natural selection, load and diversity of hereditary diseases, Tatars Tatarstan

Анализ ассоциации полиморфного маркера -308G>A гена *TNF* с развитием эссенциальной артериальной гипертензии у жителей Карелии*

Топчиева Л.В.¹, Малышева И.Е.¹, Курбатова И.В.¹,
Корнева В.А.², Степанова А.И.³, Немова Н.Н.¹

¹ — Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук (ИБ КарНЦ РАН), 185910, г.Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11; факс: (8142) 769810, e-mail: topchieva67@mail.ru

² — Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Петрозаводский государственный университет» (ПетрГУ), 185000, г. Петрозаводск, пр. Ленина, 33, e-mail: vikkorneva@mail.ru

³ — Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса Карельского научного центра Российской академии наук (ИЛ КарНЦ РАН), 185910, г.Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11; факс: (8142) 768160, e-mail: alesik527@mail.ru

Исследовано содержание фактора некроза опухоли альфа $TNF\alpha$ в плазме здоровых и больных эссенциальной артериальной гипертензией людей в зависимости от генотипа по полиморфному маркеру -308G>A гена *TNF*. Показано значительное повышение в плазме крови этого цитокина у пациентов с ЭАГ. Уровень $TNF\alpha$ у доноров контрольной группы, имеющих разные генотипы по исследуемому маркеру, не отличался. У больных ЭАГ, имеющих GG генотип, содержание этого белка было выше, чем у носителей других генотипов. Ассоциация полиморфного маркера -308G>A гена *TNF* с развитием ЭАГ (I-II стадии) у русских жителей Республики Карелии не обнаружена.

Ключевые слова: фактор некроза опухоли альфа ($TNF\alpha$), ген *TNF*, полиморфизм, эссенциальная артериальная гипертензия

Введение

Несмотря на большое количество исследований, посвящённых изучению болезней, сопровождающихся повышенным кровяным давлением, причины и механизмы их возникновения до сих пор до конца не выяснены. В последнее время большое внимание уделяется значению воспалительных процессов в формировании сердечно-сосудистых патологий, в том числе артериальной гипертензии и ишемической болезни сердца [12]. Более того, считается, что воспаление играет важную роль в возникновении и прогрессировании этих заболеваний. Так оказалось, что повышение содержания чувствительных к воспалению белков предшествует будущему увеличению систолического давления [6]. Помимо этого, острое системное воспаление, возникающее в ответ на локальное повреждение какого-либо органа, может быть независимым фактором высокого кардиоваскулярного риска. Например, у больных ревматоидным артритом, как правило, наблюдается повышение артериального давления. В роли индукторов воспаления могут выступать некоторые цитокины и С-реактивный белок. Предполагается, что значительную роль в развитии сердечно-сосудистых патологий может играть и повышенный уровень фактора некроза опухоли альфа ($TNF\alpha$) [5]. Так, известно, что у пациентов с сердечно-сосудистыми патологиями уровень этого белка в плазме крови

и моче выше, чем у людей контрольной группы [11, 15]. Вероятно, снижение содержания $TNF\alpha$, будет способствовать уменьшению риска возникновения сердечно-сосудистых заболеваний. У больных ревматоидным артритом, принимающих ингибиторы этого белка, наблюдали уменьшение систолического давления крови в течение суток [34].

Уровень цитокинов контролируется, прежде всего, иммунной системой организма, но может зависеть и от наличия полиморфных вариантов генов, кодирующих эти белки. Например, замена гуанина на аденин в позиции -308 промоторной области гена *TNF* значительно повышает его транскрипционную активность, вероятно, за счёт изменения способности связывать транскрипционный фактор [23]. Усиление транскрипционной активности, в свою очередь, может способствовать увеличению содержания данного белка. Действительно, в некоторых работах показано, что у носителей аллеля А по полиморфному маркеру -308 G>A гена *TNF* уровень этого цитокина выше, чем у людей, имеющих в генотипе аллель G [10]. В настоящее время обнаружена ассоциация -308G>A полиморфного маркера гена *TNF* с развитием коронарной болезни сердца [22], ишемического инсульта [9]. Тем не менее, имеется достаточно много работ, в которых эта ассоциация не выявлена [23, 25]. Следует отметить, что исследования, посвящённые

* Работа выполнена при финансовой поддержке программы Президиума РАН на 2012—2014 гг. «Фундаментальные науки — медицине», № г.р. 01201262105; гранта Правительства РФ по постановлению №220, ГК №11.G34.31.0052 (вед. учёный А.Н. Полтораки).

связи -308G>A полиморфного маркера гена *TNF* с развитием эссенциальной артериальной гипертензии (ЭАГ) немногочисленны и носят противоречивый характер [11, 17]. Например, из семи исследований, представленных в работе, посвящённой метаанализу ассоциации данного полиморфного маркера с гипертензией, только в трёх выявлена такая связь [17]. Указанные противоречия, на наш взгляд, связаны как с этнической принадлежностью исследуемых групп, так и влиянием факторов среды на проявление этого полигенного заболевания. В связи с этим, целью исследования явилось изучение связи полиморфного маркера -308A>G гена *TNF* с развитием ЭАГ (на примере жителей Карелии).

Материалы и методы

Для генотипирования использовано 348 образцов крови доноров (172 образца из контрольной группы (возраст $51,6 \pm 3,9$ года) (87 женщин и 85 мужчин); 176 образцов из группы пациентов с ЭАГ (I—II стадии) (возраст $57,9 \pm 2,3$ года) (80 женщин и 96 мужчин). Средний возраст доноров из группы пациентов с ЭАГ был выше, чем из контрольной группы, однако все доноры входили в одну возрастную группу 50—60 лет. Диагноз ЭАГ был установлен впервые врачами ГБУЗ «Больница скорой медицинской помощи» г.Петрозаводска в соответствии и с учётом клинических рекомендаций Всероссийского научного общества кардиологов [14]. Обследование доноров, включенных в дальнейшем в контрольную группу, проводилось также врачами ГБУЗ «Больница скорой медицинской помощи» г.Петрозаводска в ходе диспансеризации. Критерии исключения из исследования: наличие сахарного диабета; перенесённые в последний месяц инфекционно-воспалительные заболевания, курение табака, беременность и лактация, алкогольная зависимость, индекс массы тела ≥ 30 кг/м². Дополнительный критерий исключения из биохимического анализа — гипотензивная терапия.

ДНК выделяли с помощью набора AxyPrep Blood Genomic DNA Miniprep Kit («Axygen», США). Генотипирование проводилось методом ПЦР-ПДРФ. Для амплификации промоторной части гена *TNF*, включающую позицию -308, использовали праймеры, описанные в работе [14].

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в амплификаторе iCycler iQ5 (Bio-Rad, США), используя реакционную смесь Master Mix (ThermoFisher, Германия).

ПЦР-продукты обрабатывали эндонуклеазой рестрикции NcoI (1 е.а.) (Fermentas, Латвия) в течение 3 ч при 37°C и разделяли в 6%-ном полиакриламидном геле, используя трис-ацетатный буфер. Фрагменты ДНК после окрашивания бромистым этидием визуализировали в проходящем УФ-свете.

Содержание TNF α в периферической крови больных ЭАГ и доноров контрольной группы определяли имму-

ноферментным методом (ИФА) с использованием тест-систем «Вектор-Бест» (Россия). Забор крови проводили утром, натощак. Результаты исследования регистрировались на иммуноферментном анализаторе «Sunrise» (Tecan, Швейцария).

Для ИФА группы сравнения составили 38 здоровых жителей Республики Карелии, подобранных по принципу случайной выборки, не имевших на момент обследования клинических признаков гипертонии (из них 15 мужчин и 23 женщины) и 30 пациентов с установленным диагнозом ЭАГ (I—II стадии) (из них 15 мужчин и 15 женщин). Возраст доноров контрольной группы составил $35,7 \pm 7,3$ года, пациентов с диагнозом ЭАГ — $38,6 \pm 6,1$ года.

Статистическая обработка материала проведена с использованием программного обеспечения «StatGraphics 2.1», а также Microsoft Excel 2010. Проводили тест на соответствие результатов нормальному распределению. Достоверность различий частот аллелей и генотипов в группах оценивали с помощью критерия χ^2 , биохимических показателей между группами — с помощью непараметрического критерия U Вилкоксона—Манна—Уитни. Использован дисперсионный анализ Краскела—Уоллиса. Различия считали достоверными при значении $p < 0,05$. Возраст доноров указан в виде средних значений и стандартного отклонения.

Исследования выполнены на оборудовании ЦКП ИБ КарНЦ РАН.

Результаты

Как показали результаты наших исследований, уровень TNF α у пациентов с ЭАГ (I—II стадии) был достоверно выше ($p = 0,007$), чем у доноров контрольной группы ($58,45 \pm 7,3$ пг/мл и $35,6 \pm 4,12$ пг/мл соответственно).

Оказалось, что содержание TNF α в плазме крови здоровых доноров достоверно не различалось ($p = 0,67$) у носителей GG и GA+AA генотипов по исследуемому маркеру (табл. 1). У пациентов с ЭАГ, напротив, уровень этого цитокина зависел от генотипа. Так у больных, имеющих GG генотип, содержание TNF α в плазме крови было значительно больше, чем у носителей GA и AA генотипов ($p = 0,038$).

Проведённый тест на соответствие результатов нормальному распределению показал, что показатели содержания TNF α распределены не нормально. Проведён дисперсионный анализ Краскела—Уоллиса. Выявлено влияние генотипа на уровень TNF α в группе больных ЭАГ ($H = 4,56$; $p = 0,0327$).

Проанализированы частоты -308G>A полиморфного маркера гена *TNF* в контрольной группе и группе пациентов с ЭАГ (I—II стадии).

В исследуемых группах нами проводился тест на соответствие распределения равновесию Харди—Вайнберга. Несоответствие распределения равновесию Хар-

ди—Вайнберга по маркёру -308G>A обнаружено в контрольной группе ($\chi^2 = 24,30$ ($df = 2$, $p < 0,05$)) и группе пациентов с диагнозом ЭАГ ($\chi^2 = 10,76$ ($df = 2$, $p < 0,05$)).

Как видно из табл. 2, распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркёра гена *TNF* не различается в группах здоровых и больных ЭАГ. Встречаемость аллеля А и генотипа АА у пациентов с диагнозом ЭАГ и в контрольной группе практически совпадала.

Обсуждение

TNF α является провоспалительным цитокином, в основном вырабатываемым макрофагами и моноцитами, число которых резко увеличивается при ряде инфекционных и хронических неинфекционных заболеваний. Как отмечалось выше, у больных с сердечно-сосудистыми патологиями наблюдается повышенный уровень провоспалительных белков, в том числе и TNF α [11, 15]. Причём в ряде исследований выявлена корреляция уровня этого белка со значениями систолического и диастолического давления [15, 24].

Избыточная продукция TNF α может вызывать нарушение структурной целостности и функций эндотелиальных клеток и дисбаланс выработки этими клетками активных субстанций. При этом наблюдается уменьшение синтеза и выхода в кровь вазодилататоров (оксида азота) и увеличение секреции вазоконстрикторов (эндотелина и простагландинов) [17]. Указанный цитокин в повышенных концентрациях оказывает непосредственный цитотоксический эффект путём усиления деградации нейтрофильных гранулоцитов, окислительных процессов и перекисного окисления липидов в клетках. TNF α влияет также и на метаболизм липидов. Обнару-

жена положительная корреляция его уровня с содержанием атерогенных фракций липидов (триглицеридами, холестерином липопротеинов низкой плотности) и отрицательная — с уровнем антиатерогенной фракции липидов (холестирином липопротеинов высокой плотности) [15]. К тому же, TNF α индуцирует экспрессию прокоагулянтных белков, таких, как тканевой фактор, и способствует снижению содержания антикоагулянтных белков, например, тромбомодулина [8]. Этот цитокин также участвует в подавлении процесса фибринолиза, стимулируя выработку ингибитора активатора плазминогена [21]. Указанные изменения в синтезе активных субстанций, составе липидов и факторов коагуляции в итоге могут способствовать прогрессированию атеросклеротического процесса и повышению уровня кровяного давления.

Оказалось, что различия в содержании провоспалительных белков, в том числе и TNF α , можно наблюдать и у здоровых пациентов. Предполагается, что повышение содержания этих белков у здоровых доноров является одним из факторов, обеспечивающих у них высокую вариабельность параметров кровяного давления и увеличение риска развития ЭАГ [4, 6]. Это наводит на мысль о возможной связи полиморфизма генов цитокинов с развитием ЭАГ.

Как отмечалось выше, уровень TNF α в плазме крови может определяться не только развитием воспалительного процесса в организме, но и наличием однонуклеотидных замен в промоторной части гена, кодирующего этот белок. Так, замена гуанина на аденин в позиции -308 приводит к увеличению транскрипционной активности гена *TNF* [23]. В связи с этим, мы проанализировали содержание TNF α в плазме крови здоровых и боль-

Таблица 1

Содержание TNF α в контрольной группе и группе пациентов с ЭАГ в зависимости от генотипа по -308G>A полиморфному маркёру гена *TNF*

Группа	Генотип	Концентрация TNF α , среднее значение, пг/мл	Медиана	Минимум	Максимум	Межквартильный размах
Контрольная	GG (n = 23, 60%)	32,64 $\pm$ 4,30	21,64	7,14	80,18	30,56
	GA+AA (n = 15, 40%)	36,72 $\pm$ 11,35	34,09	11,29	63,68	37,10
ЭАГ	GG (n = 17, 57%)	46,75 $\pm$ 7,16	46,47	6,86	89,70	39,40
	GA+AA (n = 13, 43%)	25,6 $\pm$ 5,2	23,22	6,57	46,88	22,68

Таблица 2

Распределение аллелей и генотипов по полиморфному маркёру -308G>A гена *TNF* в группе людей, страдающих ЭАГ, и в контрольной группе

		Контрольная группа, n = 172	Группа больных ЭАГ, n = 176	Критерий χ^2
Аллели	G	304 (0,884)	306 (0,870)	0,158 ($p > 0,05$)
	A	40 (0,116)	23 (0,130)	
Генотипы	GG	141 (0,820)	138 (0,784)	1,303 ($p > 0,05$)
	GA	22 (0,128)	30 (0,171)	
	AA	9 (0,052)	8 (0,045)	

ных ЭАГ доноров в зависимости от генотипа по -308G>A полиморфному маркеру. Как показали результаты наших исследований, у здоровых доноров концентрация этого цитокина в плазме крови не зависела от генотипа. Однако у пациентов с ЭАГ, имеющих генотип GG, содержание TNF α было выше, чем у носителей других генотипов. Исходя из данных литературы о влиянии замены гуанина на аденин в положении -308 гена *TNF* на уровень его транскрипции [23], следовало бы ожидать повышение уровня этого белка у лиц, имеющих в генотипе аллель А. Однако в литературе представлены противоречивые данные о влиянии указанной однонуклеотидной замены как на транскрипционную активность изучаемого гена, так и на содержание кодируемого им белка. Так, в исследовании Fernandes с соавторами показано, что у носителей генотипа AA синтез белка происходит в 3 раза активнее, чем у лиц с генотипом GG [10]. В то же время, имеются работы, в которых не выявлена связь уровня транскриптов гена *TNF* и содержания кодируемого им белка с генотипами по изучаемому маркеру как у здоровых, так и больных доноров [7, 16, 19]. Указанные противоречия частично можно объяснить использованием различных линий клеток и векторных конструкций для оценки транскрипционной активности гена *TNF in vitro* [3]. Так, если репортерная генная конструкция содержала 3'-нетранслируемую область этого гена, то различия в уровне транскриптов между аллелем А и G наблюдались [3]. Эти данные свидетельствуют о важной роли посттранскрипционных событий в регуляции экспрессии TNF α .

Повышенный уровень TNF α у больных ЭАГ с генотипом GG, вероятно, можно объяснить наличием дополнительных мутаций в промоторной области, влияющих на уровень экспрессии исследуемого гена [21] или включением в регуляцию содержания данного белка механизмов, связанных с посттранскрипционными событиями. В то же время, не исключено, что различия в содержании данного цитокина у носителей GG и GA+AA генотипов больных ЭАГ, обнаруженные в нашей работе, могут быть следствием статистической флуктуацией из-за малочисленности выборок. Это обстоятельство требует проведения дальнейшего изучения данного вопроса на выборках большего объема.

Интересно, что противоречивые данные литературы встречаются не только в отношении связи -308G>A полиморфного маркера гена *TNF* с содержанием белка, но и его ассоциации с наличием ряда сердечно-сосудистых патологий, что уже отмечалось выше. В своем исследовании мы проанализировали частоты -308G>A полиморфного маркера гена *TNF* в контрольной группе и группе пациентов с ЭАГ (I—II стадии).

Нами не выявлена ассоциация -308G>A полиморфного маркера гена *TNF* с развитием ЭАГ (I—II стадии). В ряде исследований показано увеличение частоты аллеля А и генотипа AA в группах пациентов с различными кардиоваскулярными расстройствами, что может

указывать на наличие генетического риска развития сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) у носителей этого аллеля и генотипа. В то же время, имеются сведения о повышенной частоте GG генотипа в группах людей, перенесших инфаркт миокарда [20], страдающих хронической сердечной недостаточностью [2]. Вероятно, противоречивые данные в имеющихся ассоциативных исследованиях, обусловлены влиянием как генетических, так и средовых факторов на проявление ССЗ. Этническая принадлежность исследуемых групп населения также играет немаловажную роль в генетической предрасположенности к этим заболеваниям. Например, показана ассоциация риска развития инфаркта миокарда с полиморфизмом гена *TNF* (-308G>A) у этнических татар, но не у русского населения Республики Башкортостан [20].

В целом, исходя из полученных результатов, можно заключить, что развитие ЭАГ (I—II стадии) сопровождается повышением уровня провоспалительного цитокина TNF α в плазме крови. Схожее распределение частот аллелей и генотипов по -308G>A полиморфному маркеру гена *TNF* в двух группах сравнения, а также отсутствие различий в концентрации данного белка у здоровых доноров, имеющих разные генотипы, позволяют предположить, что исследуемый полиморфизм не вовлечен в генетическую предрасположенность русского населения Карелии к развитию эссенциальной артериальной гипертензии.

Список литературы

1. Диагностика и лечение артериальной гипертензии. Российские рекомендации (IV пересмотр) / Российское медицинское общество по артериальной гипертензии. Всероссийское научное общество кардиологов // Системные гипертензии. — 2010. — №3. — С. 5—26.
2. Ефремов А.В., Березикова Е.Н., Шилов С.Н., Сафонов И.Д., Самсонова Е.Н., Пустоветова М.Г. Полиморфизм генов ФНО- α , ИЛ-1 β , iNOS и особенности системной воспалительной реакции у больных с хронической сердечной недостаточностью // Кардиология. — 2011. — Т. 3. — С. 63—66.
3. Abraham L.J., Kroeger K.M. Impact of the -308 TNF promoter polymorphism on the transcriptional regulation of the TNF gene: relevance to disease // J. Leuk. Biol. — 1999. — Vol. 66. — P. 562—566.
4. Abramson J.L., Lewis C., Murrah N.V., Anderson G.T., Vaccarino V. Relation of C-reactive protein and tumor necrosis factor-alpha to ambulatory blood pressure variability in healthy adults // Am. J. Cardiol. — 2006. — Vol. 98. — P. 649—652.
5. Azzawi M., Hasleton P. Tumour necrosis factor alpha and the cardiovascular system: its role in cardiac allograft rejection and heart disease // Cardiovascular Research. — 1999. — Vol. 43. — P. 850—859.
6. Bautista L.E., Vera L.M., Arenas I.A., Gamarra G. Independent association between inflammatory markers (C-reactive protein, interleukin-6, and TNF- α) and essential hypertension // J. Hum. Hypert. — 2005. — Vol. 19. — P. 149—154.
7. Bayley J.P., de Rooij H., van den Elsen P.J., Huizinga T.W., Verweij C.L. Functional analysis of linker-scan mutants spanning

the -376,-308, -244, and -238 polymorphic sites of the TNF- α promoter // *Cytokine*. — 2001. Vol. 14. — P. 316–323.

8. Bevilacqua M.P., Pober J.S., Majeau G.R., Fier W., Cotran R.S., Gimbrone M.A. Recombinant tumor necrosis factor induces procoagulant activity in cultured human vascular endothelium: Characterization and comparison with the actions of interleukin 1 // *Proc. Nati. Acad. Sci. USA*. — 1986. — Vol. 83. — P. 4533–4537.

9. Cui G., Wang H., Li R., Zhang L., Li Z., Wang Y., Hui R., Ding H., Wang D.W. Polymorphisms of tumor necrosis factor α (TNF- α) gene promoter, circulating TNF- α level, and cardiovascular risk factor for ischemic stroke // *J. Neuroinflamm.* — 2012. — Vol. 9. — P. 235–245.

10. Fernandes H., Koneru B., Fernandes N., Hameed M., Cohen M.C., Raveche E., Cohen S. Investigation of promoter polymorphisms in the tumor necrosis factor- α and interleukin-10 genes in liver transplant patients // — 2002. — Vol. 73, №12. — P. 1886–1891.

11. Furumoto T., Association of of cardiovascular risk factors and endothelial dysfunction in Japanese hypertensive patients: implications for early atherosclerosis // *Hypertens. Res.* — 2002. — Vol. 25. — P. 475–480.

12. Harrison D.G., Guzik T.J., Lob H., Madhur M., Mavvar P.J., Thabet S., Vinh A., Weyand C. Inflammation, Immunity and Hypertension // *Hypertension*. — 2011. — Vol. 57, №2. — P. 132–140.

13. Hermann S.M., Ricard S., Nicaud V. Polymorphisms of the tumor necrosis factor- α gene, coronary heart disease and obesity // *Eur. J. Clin. Invest.* — 1998. — Vol. 28. — P. 59–66.

14. Ito M., Takahashi H., Fuse K., Hirono S., Washizuka T., Kato K., Yamazaki F., Inano K., Furukawa T., Komada M., Aizawa Y. Polymorphisms of tumor necrosis factor- α and interleukin-10 genes in Japanese patients with idiopathic dilated cardiomyopathy // *Jpn. Heart J.* — 2000. — Vol. 41. — P. 183–191.

15. Ito H., Ohshima A., Tsuzuki M., Ohto N., Takao K., Hijii C., Yanagawa M., Ogasawara M., Nishioka K. Association of serum tumor necrosis factor- α with serum low-density lipoprotein-cholesterol and blood pressure in apparently healthy Japanese women // *Cl. Exp. Pharm. Phys.* — 2001. — Vol. 28. — P. 188–192.

16. Kubota T., McNamara D., Wang J., Wang J.J., Trost M., McTiernan C.F., Mann D.L., Feldman A.M. Effects of TNF- gene

polymorphisms on patients with congestive heart failure // *Circulation*. — 1998. — Vol. 97. — P. 2499–2501.

17. Li Y.-Y. Tumor necrosis factor- α G308A gene polymorphism and essential hypertension: a meta-analysis involving 2244 participants // *PloS One*. — 2012. — Vol. 7, №4. e35408.

18. Mark K.S., Trickler W.J., Miller D.W. Tumor necrosis factor- α induces cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin release in brain microvessel endothelial cells // *J. Pharmacol. Exp. Therap.* — 2001. — Vol. 297, №3. — P. 1051–1058.

19. Mekanian A., Tamouza R., Pavy S., Gestermaun N., Itah M., Mariette X., Miceli-Richard C. Functional study of TNF- α promoter polymorphisms: literature review and meta-analysis // *Eur. Cytokine Netw.* — 2011. — Vol. 22, №2. — P. 88–102.

20. Tulyakova G., Nasibullin T., Avzaletdinova D., Khusnutdinova E., Mustafina O., Salmanov A., Zakirova A. Association of the -308 (G/A) polymorphism of tumor necrosis factor α with myocardial infarction and sudden cardiac death // *Balk. J. Med. Genet.* — 2005. — Vol. 8, №3–4. — P. 31–35.

21. Van Hinsbergh V.W., Kooistra T., van den Berg E.A., Princen H.M., Fiers W., Emeis J.J. Tumor necrosis factor increases the production of plasminogen activator inhibitor in human endothelial cells in vitro and in rats in vivo // *Blood*. — 1988. — Vol. 72. — P. 1467–1473.

22. Vendrell J., Fernandez-Real J.-M., Gutierrez C., Zamora A., Simon I., Bardaji A., Ricart W., Richart C. A polymorphism in the promoter of the tumor necrosis factor- α gene (-308) is associated with coronary heart disease in type 2 diabetic patients // *Atherosclerosis*. — 2003. — Vol. 167, №2. — P. 257–264.

23. Wilson A.G., Symons J.A., Grall F. et al. Effect of a polymorphisms in the human tumor necrosis factor α on transcriptional activation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997. — Vol. 94. — P. 3195–3199.

24. Yoshida S., Takeuchi T., Kotani T., Yamamoto N., Hata K., Nagai K., Shoda N., Takai S., Makino S., Hanafusa T. Infliximab, a TNF- α inhibitor, reduces 24-h ambulatory blood pressure in rheumatoid arthritis patients // *J. Hum. Hypertens.* — 2014. — Vol. 28, №3. — P. 165–169.

25. Zee R.Y., Cook N.R., Cheng S. Multi-locus candidate gene polymorphisms and risk of myocardial infarction: a population-based, prospective genetic analysis // *J. Thromb. Haemost.* — 2006. — Vol. 4. — P. 341–348.

The analysis of the association of -308G>A polymorphic marker of the *TNF* gene with the development of essential hypertension in Karelian inhabitants

Topchieva L.V., Malysheva I.E., Kurbatova I.V., Korneva V.A., Stepanova A.I., Nemova N.N.

The level of plasma tumor necrosis factor α in healthy and hypertensive subjects depending on the genotype of -308G>A polymorphic marker of *TNF* gene was investigated. The significant increase in plasma levels of this cytokine in patients with essential hypertension (EAH) was shown. The level of TNF α in the control group with different genotypes for the marker under study did not differ. The level of this protein in hypertensive patients with GG genotype was higher than in other genotypes carriers. The association of -308G>A polymorphic marker *TNF* gene with the development of EAH (I-II stage) in Russian Karelia residents was not detected.

Key words: tumor necrosis factor α (TNF α), a *TNF* gene, polymorphism, essential hypertension

Клинические и генетические корреляции при периодической болезни у детей в Армении

Амарян Г.Г.^{1,2,3}, Саркисян Т.Ф.^{3,4}, Айрапетян А.С.^{3,4}, Тадевосян А.Э.³

¹ — Медицинский Центр «Арабкир» — Институт здоровья детей и подростков

² — Республиканский детский центр периодической болезни

³ — Ереванский государственный медицинский университет им. М. Гераци

⁴ — Центр медицинской генетики и первичной охраны здоровья

0014, Ереван, ул. Мамиконяц, 30; 0025, ул. Абовяна, 48/3; Республика Армения

Аутосомно-рецессивная периодическая болезнь (ПБ) или семейная средиземноморская лихорадка характеризуется спонтанными возвратными приступами лихорадки и асептического полисерозита, а также тяжёлыми осложнениями — амилоидозом почек (АП) и спаечной болезнью. ПБ распространена среди популяций средиземноморского происхождения (евреи, арабы, армяне, турки, греки и др.). Нами изучены фенотипические (клинические) и генотипические корреляции у 715 детей с диагнозом ПБ в Армении. Полученные данные свидетельствуют о том, что в армянской популяции у детей, больных ПБ преобладают тяжёлые формы с полисерозитом, ассоциированные с мутациями в 10-м экзоне гена *MEFV*: M694V, V726A, M680I. Чаще, чем в других популяциях (евреи-сефарды, турки, арабы), у них ПБ сопровождается плевритом, миалгией, перикардитом, реже поражением кожи. Показано, что риск развития серозитов, РЭ, спленомегалии, васкулитов ассоциирован с M694V-гомозиготным и компаунд-гетерозиготным генотипами. M694V-гомозиготный и M694V-гетерозиготный генотипы рассматриваются как фактор риска развития артритов при ПБ. Наряду с васкулитами у детей с ПБ чаще, чем предполагалось, встречаются другие иммуновоспалительные заболевания: ювенильный идиопатический артрит, неамилодные поражения почек, воспалительные заболевания кишечника, а также спаечная кишечная непроходимость, в ряде случаев являясь первой, ранней и единственной манифестацией болезни. Учитывая большую распространённость ПБ и высокую частоту носительства мутаций в гене *MEFV* у армян для ранней диагностики ПБ, лечения и предупреждения осложнений необходимо тестирование мутаций в гене *MEFV* как при типичных, так и атипичных формах ПБ у детей.

Ключевые слова: периодическая болезнь, дети, ген *MEFV*, фенотипические (клинические) и генотипические корреляции

Введение

Актуальность изучения клинико-генетических закономерностей и функционирования генома при моногенных аутовоспалительных периодических лихорадках обусловлена возрастом числа картированных и клонированных генов, вовлечённых в процессы воспаления. Аутосомно-рецессивная периодическая болезнь (ПБ) или семейная средиземноморская лихорадка (Familial Mediterranean Fever, FMF; OMIM 249100) характеризуется спонтанными возвратными приступами лихорадки и асептического полисерозита (перитонит, плеврит, синовит) на фоне нарушений функций иммунной системы, а также тяжёлыми осложнениями — амилоидозом почек (АП) и спаечной болезнью. ПБ распространена среди популяций средиземноморского происхождения (евреи, арабы, армяне, турки, греки, итальянцы, испанцы, киприоты), что вполне закономерно, учитывая их многовековые контакты.

Идентификация мутаций в гене *MEFV* (Mediterranean FeVer), локализованного в коротком плече хромосомы 16p13.3, ознаменовала начало нового этапа в ранней диагностике и профилактике ПБ. Определена зависимость фенотипических особенностей семейных и спорадических случаев заболевания от спектра мутаций и их локализации в имеющихся 10 экзонах [13, 16, 17, 21].

В Армении, по данным Республиканского детского центра ПБ (РДЦ ПБ), с 2003—2012 гг. отмечена высокая

ежегодная выявляемость ПБ среди детей (до 300—350 первичных больных) и 4-кратное увеличение общего числа больных (с 500 до 2300). В Центре медицинской генетики и первичной охраны здоровья (ЦМГ) страны еженедельная обращаемость составляет более 80 первичных случаев; на основании клинических и генетических исследований 20 000 больных ПБ выявлены 12 наиболее частых мутаций в гене *MEFV* и установлена чрезвычайно высокая частота гетерозиготных носителей у армян, равная 1:4—5 [1, 20]. При межпопуляционном сравнении показана одинаковая частота мутации *M694V* у армян, евреев-сефардов, турок; мутации *M680I* — у армян, турок, арабов; преобладание мутации *V726A* у армян по сравнению с евреями-сефардами и турками [2, 7, 15, 16, 22]

Целью данного исследования было изучение клинических и генетических корреляций при ПБ у детей в Армении.

Материал и методы

Исследовано 715 больных ПБ армянской национальности (438 мальчиков и 277 девочек) в возрасте от 3 мес. до 17 лет (средний возраст $8,64 \pm 0,17$ года), наблюдавшихся в РДЦ ПБ Медицинского Центра «Арабкир» — Института здоровья детей и подростков (МК) «Арабкир» — ИЗДП) с 1997—2008 гг. Диагноз и степень тяжести ПБ определяли по международным критериям Tel-Has-

Таблица 1

Основные группы генотипов *MEFV* у больных ПБ детей

Основные группы генотипов <i>MEFV</i>	Число больных, n = 687 (7)*; (21)**	
	Абс.	%
Гомозиготы по мутациям: M694V; M680I; V726A; R761H	237 (211) (16; 8; 2)	34,1 (30,4%); (2,3%, 1,2%, 0,2%)
M694V/0 (гетерозиготы с M694V)	61	8,7
M694V/Другие (компаунд-гетерозиготы с M694V)	257	37,0
Другие/Другие (компаунд-гетерозиготы без M694V)	93	13,4
Другие/0 (гетерозиготы, исключая M694V)	39	5,6

Примечание. * — больные без мутаций *MEFV*; ** — без генетического тестирования. При исследовании фенотипических и генотипических корреляций из статистической обработки были исключены 7 пациентов (1,0%) без мутаций в гене *MEFV* (из-за малочисленности), а также 21 больной (2,9%) без генетического тестирования

homer [10, 11]. Диагноз ПБ окончательно подтверждался молекулярно-генетическим анализом (ПЦР-амплификация, реверс-гибридизация) в ЦМГ, где наиболее частые среди армян 12 мутаций в гене *MEFV* были выделены в 23 различных генотипах [1, 15, 16]. Исследование выполнялось на геномной ДНК больных, выделенной из периферической крови с использованием специальных наборов реагентов «Puregene kit» (Gentra System, USA). Закономерности корреляции фенотипа с генотипом *MEFV* исследовались в пяти относительно однородных группах, распределённых по наиболее частой мутации M694V, как принято в литературе (табл. 1).

Статистический анализ. Для оценки достоверности результатов исследования в случае количественных переменных применяли двусторонний вариант критерия Стьюдента для независимых выборок. При множественных сравнениях использовался однофакторный дисперсионный анализ (oneway ANOVA), нулевая гипотеза отвергалась при $F_{\text{расч.}} > F_{\text{крит.}}$. Для сравнения двух номинальных переменных в таблицах 2x2 использован критерий соответствия Пирсона с поправкой Йетса на непрерывность; различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Рассчитывали отношения шансов с 95%-ными доверительными интервалами [5]. Расчёты проводились на персональном компьютере с использованием статистических программ Epi-Info 2000, Biostat, SPSS для WINDOWS 11.0, GraphPad PRISM Software (GraphPad Software, San Diego, CA USA; Version 3.1. 2002).

Результаты исследования и обсуждение

Средний возраст манифестации ПБ был равен $3,5 \pm 0,1$ годам, а постановки диагноза — $5,25 \pm 0,15$ годам, т.е. задержка диагностики составила ~2 года. В целом, у 95,1% пациентов отмечалось начало ПБ до 10-го года жизни, из них у 78,6% — до 5 лет, с пиком начала в 1—3 года у почти половины из них (42,7%), причём с более ранним началом у мальчиков (1,6:1), особенно при дебюте болезни до года (2:1) ($p < 0,05$). Соотношение мальчиков (61,3%) и девочек составило 1,5:1. Наследуемость в семьях была отмечена у 48,2%, из них 4,3% состояли в кровнородственном браке.

Частоты клинических симптомов у детей с ПБ в Армении (%) представлены на рис. 1. Анализ клинических проявлений ПБ показал соответствие в целом классическому клиническому профилю заболевания. В частности, фебрильные абдоминальные кризы, как основной симптом ПБ, отмечались у большинства детей (у 92,4%), при этом у более половины из них (56,3%) они были первоначальным симптомом манифестации. Однако у армянских детей с ПБ достоверно чаще, чем в иных этнических популяциях (евреи-сефарды, турки, арабы) наблюдался плеврит (81,7%) ($F = 123,8$; $p < 0,05$), миалгия (37,5%) ($F = 62,7$; $p < 0,000$), перикардит (13,8%), реже — поражения кожи (13,4%) ($F = 12,2$; $p < 0,000$),

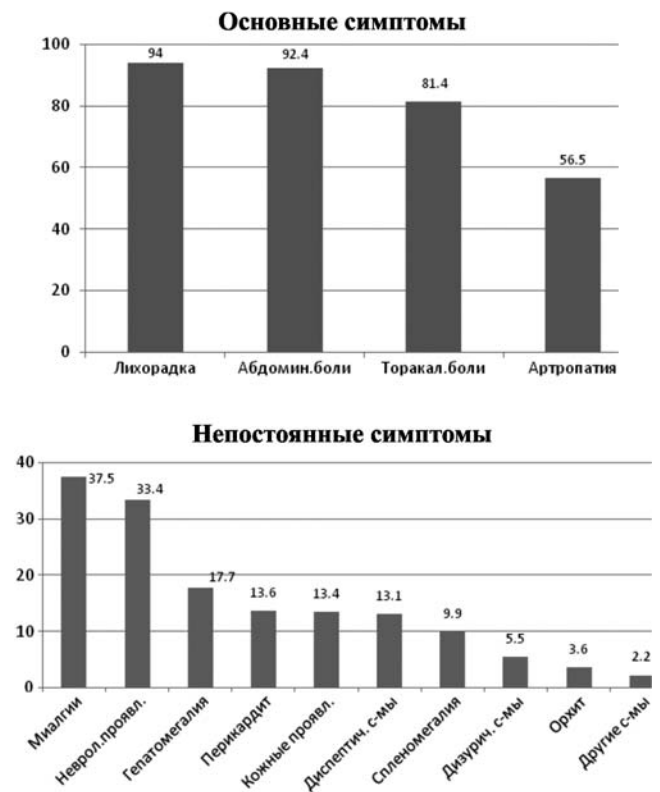


Рис. 1. Частота клинических симптомов ПБ среди детей.

Корреляция симптомов ПБ со спектром мутаций в гене *MEFV* и со степенью тяжести

Клинические симптомы	Спектр мутаций в гене <i>MEFV</i>	Тяжесть ПБ
Основные симптомы		
Лихорадка	—	*
Абдоминалгия	*	—
Торакалгия	*	—
Артрит (ОРА; ЮИА) /артралгия	*	*
Непостоянные симптомы		
Рожеподобная эритема	*	*
Геморрагический васкулит	*	*
Затяжная фебрильная миалгия	*	*
Орхит	*	*
Спленомегалия	*	*
Гепатомегалия	—	*
Миалгия (спонтанная; физического напряжения)	—	*
Перикардит	—	—
Головная боль	—	—
Диспептические симптомы	—	—
Дизурические симптомы	—	—
Примечание. * — статистически достоверная корреляция		

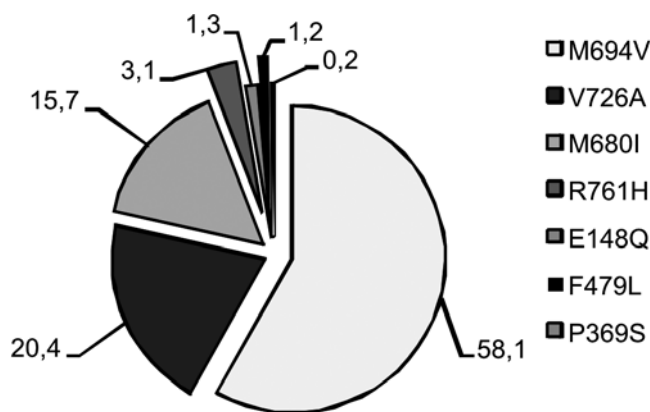
в основном по типу патогномичной для ПБ — рожеподобной эритемы (РЭ) (10,8%), а по сравнению с арабами и турками — чаще отмечался также суставной синдром (56,4%) ($F = 24,95$; $p < 0,000..$). Из других непостоянных симптомов наиболее примечательна частота головных болей (29,9%), гепато- (17,7%) и спленомегалии (9,9%). Диспепсия во время приступа (27,1%) в виде диареи или запоров (10,2%) наблюдалась при ранней манифестации до 5 лет, позже — в виде тошноты и рвоты (16,9%).

Молекулярно-генетическое тестирование 12 мутаций в гене *MEFV* проведено у 694 из 715 детей с ПБ (97,1%). При анализе 1274 аллелей были идентифицированы 7 мутаций в гене *MEFV*, распределение которых

подтвердило ранее выявленные закономерности [1, 15]. Подавляющее большинство — 94,2% составили три наиболее высокопенетрантные мутации экзона 10: лидирующая M694V (58,1%), далее V726A (20,4%), M680I (15,7%), значительно реже — мутация R761H — 3,1% (рис. 2). В 2,7% выявлены мутации с низкой пенетрантностью: E148Q — экзона 2 (1,3%); F479L — экзона 5 (1,2%), и P369S — экзона 3 (0,2%) (рис. 2)

Среди армянских детей, больных ПБ, 34,1% составили гомозиготы, 50,4% — компаунд-гетерозиготы; 18,72% — гетерозиготные носители; у 1,2% больных мутации не были обнаружены. При этом среди **гомозигот** преобладал генотип с наиболее патогенной M694V мутацией — M694V/M694V — 30,4%; реже — M680I/M680I (2,3%); V726A/V726A (1,2%); R761H/R761H (0,2%) генотипы. Среди **компаунд-гетерозигот** также преобладали генотипы с M694V мутацией: M694V/V726A (20,3%), M694V/M680I (12,7%), M694V/R761H (3,3%); M694V/E148Q (0,7%), а также V726A/M680I (9,1%), V726A/E148Q (0,6%); M680I/E148Q (0,3%). Среди **гетерозиготных носителей** генотип M694V/N (8,8%) преобладал в 1,5 раза над генотипом Другие/0 (5,6%), прежде всего — V726A/0 (2,7%), M680I/N (1,3%), реже — E148Q/0 (0,9%). Мутация E148Q в некоторых популяциях причисляется к полиморфизмам в связи с её низкой пенетрантностью, однако наши исследования о встречаемости E148Q у 5,1% больных ПБ в армянской популяции данное мнение опровергают [16].

С помощью клинического и генотипического корреляционного анализа выявлена достоверная зависимость риска развития большинства симптомов от генотипов *MEFV* и тяжести ПБ (табл. 2, рис. 3,4).

Рис. 2. Распределение спектра мутантных аллелей гена *MEFV* (%)

Лидирующая роль в развитии тяжёлого течения ПБ принадлежит мутации M694V, с высоким риском серозитов (перитонита, плеврита, синовита, орхита), рожееподобной эритемы (РЭ), васкулитов (ГВ, ЗФМ, ББ), спленомегалии при ассоциации с M694V-гомозиготным и компаунд-гетерозиготным генотипами. Это, однако, не было установлено для некоторых непостоянных симптомов ПБ — миалгии, головной боли, гепатомегалии, что, по-видимому, подтверждает влияние, помимо генетического, также иных дополнительных факторов (средовые, модифицирующие факторы и др.), влияющих на течение ПБ.

Абдоминальные кризы (92,4%) ассоциировались с гомозиготным и компаунд-гетерозиготным генотипами по 3 основным мутациям M694V, V726A, M680I. Частота их развития была в 3,4 раза выше у M694V-гомозигот, и в 2,5 раза — у M694V компаунд-гетерозигот по сравнению с M694V-гетерозиготами (рис. 3).

Риск развития **плеврита** (торакальных кризов) в отличие от других серозитов в 2,3 раза был выше у M694V/V726A компаунд-гетерозигот, чем у M694V — гомозигот, клинически проявляясь более благоприятным течением. Мутация V726A связана с преобладанием торакальных кризов и более лёгким течением. Возвратный асептический **перикардит** (13,8%), в основном в сочетании с плевритом, отмечен почти у 50% M694V-гомозигот.

Суставной синдром (56,4%) проявлялся, в основном в виде острых рецидивирующих артритов (ОРА) (30,5%), транзиторной артралгии (21,2%), хронического деструктивного артрита по типу ювенильного идиопатического артрита (ЮИА) (4,7%), частота которых оказалась значительно выше, чем предполагалось. Риск развития **артритов** был ассоциирован с M694V-гомозиготным и гетерозиготным (M694V0/0) генотипами, обуславливая тяжесть и нередко атипичность клиники. У гетерозигот по другим мутациям (Другие/0) вероятность развития ЮИА была также значимо высокой. У больных с гетерозиготным генотипом *MEFV* как при типичном, так и атипичном течении ПБ отмечена достоверная связь с лёгким или среднетяжёлым течением, а клинически — с преобладанием артритов. Наличие атипичных клинических проявлений почти у трети больных ПБ с ЮИА, по-видимому, подтверждает модифицирующее влияние последней на течение ПБ и нуждается в дальнейшем исследовании. В любом случае сочетание ПБ с ЮИА может рассматриваться как один из вариантов тяжёлого течения ПБ [2]. Поскольку артриты нередко являлись первой и единственной манифестацией ПБ, то с учётом высокой распространённости ПБ в Армении, целесообразно тестирование *MEFV* мутаций при атипичном или торпидном течении артритов и ЮИА, даже при отсутствии симптомов ПБ.

Риск развития **орхита**, а также **спленомегалии** также был ассоциирован с мутацией M694V, особенно с M694V-гомозиготным генотипом. Риск развития **ми-**

алгии (спонтанная миалгия или миалгия физического напряжения, СМ/МФН) у детей с ПБ не был связан с генотипами *MEFV*, однако ассоциировался с тяжестью течения ПБ. Симптомы СМ/МФН (37,5%) чаще встречались у V726A-гетерозигот.

Головная боль, будучи одним из частых симптомов ПБ (в основном, по типу мигреноподобной), чаще встречалась у M694V-гомозигот и компаунд-гетерозигот с V726A и M680I. Частота эпилепсии, диагностированной у 1% детей с ПБ, не превышала среднепопуляционную.

Гепатомегалия ассоциировалась с тяжестью течения ПБ, и в отличие от спленомегалии не зависела от мутации в гене *MEFV*.

Риск раннего начала ПБ, **особенно до года**, коррелировал с мутацией M694V и более тяжёлым и нередко атипичным течением болезни, в виде кратковременных эпизодов гипертермии с беспокойством, коликами, неустойчивым стулом, которые часто оценивались как лихорадки неясной этиологии и/или как вирусные или бактериальные инфекции (тонзиллиты, острые респираторные или другие вирусные инфекции). Риск тяжёлого течения ПБ **при ранней манифестации до 5-го года жизни** возрастал в 2 раза по сравнению с более поздним её началом, особенно при гомозиготном и компаунд-гетерозиготном генотипах по мутации M694V. Мутации M680I и V726A также ассоциировались с риском раннего начала ПБ, но, в основном, среднетяжёлого течения.

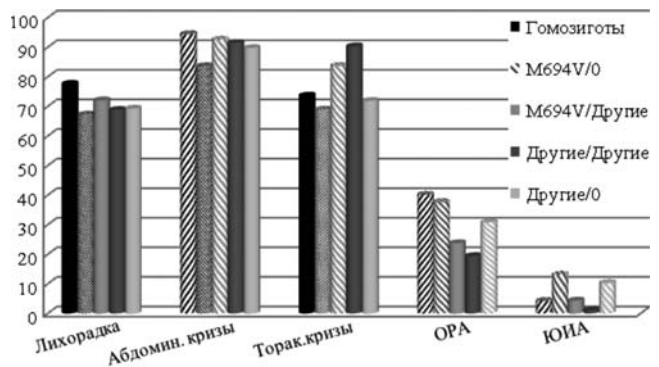


Рис. 3. Риск развития основных симптомов ПБ и генотипы *MEFV*.

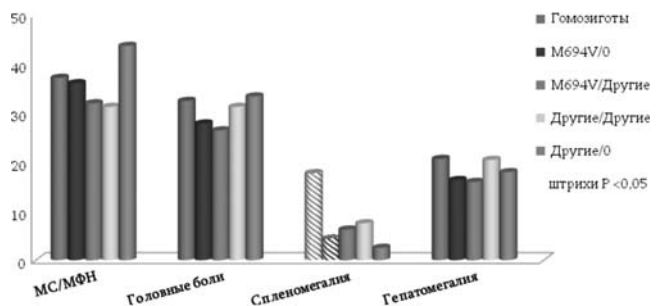


Рис. 4. Риск развития непостоянных симптомов ПБ и генотипы *MEFV*.

У 4,3% детей с ПБ, в основном у М694V-гомозигот ($\chi^2 = 8,27$; $p < 0,02$) с тяжёлым течением болезни, при манифестации болезни до 3 лет ($OR = 3,90$; 95% ДИ 1,32—11,35) наблюдались **васкулиты, чаще** геморрагический васкулит (ГВ) — 1,5% (11 больных) и затяжная фебрильная миалгия (ЗФМ) — 2,8% (20 больных). Это согласуется с данными о предрасположенности больных ПБ в этнических популяциях к развитию васкулитов, ассоциированных ПБ — ГВ, ЗФМ [9, 19]. Кроме вышеуказанных васкулитов, чаще, чем предполагалось, встречались и некоторые иммунные заболевания — ювенильный идиопатический артрит (ЮИА) — 4,7% (34 больных), неамилоидные поражения почек (НАПП) — 1,1% (8 больных), а также второе после АП (4,2%) (31 больной) осложнение ПБ — СКН — 3,2% (23 больных).

В настоящее время рассматривается также вопрос о возможной патогенетической связи между ПБ и иммунными воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК): неспецифическим язвенным колитом (НЯК) и болезнью Крона (БК) в качестве сопутствующего заболевания, а также развития интестинальных васкулитов при ПБ [4, 8, 18].

Нами выявлен НЯК у 0,4% (3 больных) М694V-гомозигот. Они характеризовались ранним и атипичным началом ПБ на 1-м году жизни в виде повторных фебрильных колик, диареи и абактериального гемоколита с развитием в дальнейшем типичных приступов ПБ, частыми обострениями, ранним присоединением артрита, миалгии, и торпидным ответом на базисное лечение НЯК. После начала колхицинолечения в средне-высоких дозах 0,05—0,07 мг/кг/сут) у них наряду с прекращением приступов ПБ, наблюдалась стойкая ремиссия НЯК, позволившая отменить стероидную терапию. В этнических по ПБ популяциях при раннем начале НЯК у детей тестирование мутаций *MEFV* может помочь ранней диагностике и лечению ПБ [1, 3, 14].

При ПБ кроме АП встречаются неамилоидные поражения почек (НАПП), в частности, гломерулопатии [1].

Нами у 1,2% (8) детей с ПБ диагностированы реальные васкулиты в виде гистологически подтверждённых гломерулопатий. Мутация М694V (в трети случаев — гомозиготы) встречались намного чаще, чем в целом у армянских пациентов с ПБ без поражения почек (19%) и несколько реже, чем в группе больных с ПБ, осложнённой АП (59%) [3, 6, 12]. В армянской популяции, при развитии ГН со стойким мочевым синдромом (с персистирующей протеинурией с/без гематурии) при наличии экстраренальных признаков васкулита (артропатия, миалгия, сыпь и др.) наряду с нефробиопсией больных целесообразно тестирование мутаций в гене *MEFV* для ранней и/или дифференциальной диагностики с начальной стадией АП, своевременного начала колхицинолечения и контроля за поражением почек наряду с базисной терапией, в ряде случаев без стероидов. Это позволит также обеспечить мониторинг за течением как НАПП, так и ПБ, позволив предупредить развитие АП

У 3,2% детей (23) течение ПБ осложнилось развитием спаечной кишечной непроходимости (СКН), в трети случаев совпав с манифестацией типичной ПБ. Частота СКН была в 1,5—3,5 раза выше при наличии мутации М694V, чаще М694V-гомозиготного генотипа (33%).

Заключение

Проведённые исследования позволяют сделать следующие **выводы о том, что в армянской популяции у детей, больных ПБ:**

- преобладают тяжёлые формы с полисерозитом (96,5%), ассоциированные с наиболее пенетрантными и патогенными мутациями в 10-м экзоне гена *MEFV*: М694V (58,1%), V726A (20,4%), М680I (15,7%). Более лёгкие или атипичные формы без полисерозита, встречаются, в основном, у гетерозиготных носителей мутаций *MEFV* с низкой пенетрантностью во 2-м (E148Q) и 3-м (P369S) экзонах;

- достоверно чаще, чем в других популяциях (евреи-сефарды, турки, арабы), у армянских детей ПБ сопровождается плевритом (81,7%), миалгией (37,5%), перикардитом (13,8%), реже поражением кожи (13,4%), в основном по типу рожеподобной эритемы (РЭ) (10,8%);

- риск развития серозитов, РЭ, спленомегалии, васкулитов (ГВ, ЗФМ) ассоциирован с М694V-гомозиготным и компаунд-гетерозиготным генотипами, что не отмечено при миалгии, головной боли, гепатомегалии;

- частота развития торакальных кризов связана, в основном с М694V/V726A генотипом, и в 2 раза выше, чем у М694V-гомозигот;

- мутация М694V, особенно М694V-гомозиготный и М694V-гетерозиготный генотипы рассматриваются как фактор риска развития артритов при ПБ. ПБ в сочетании с ЮИА имеет тяжёлое течение;

- для *MEFV*-гетерозигот характерно лёгкое и средне-тяжёлое течение как типичной, так и атипичной (неполной) форм ПБ с преобладанием артритов;

- у детей с ПБ наряду с васкулитами (ГВ, ЗФМ) чаще, чем предполагалось, встречаются другие иммуновоспалительные заболевания: ЮИА (4,7%), НАПП (1,1%), НЯК (0,4%), а также второе после АП осложнение ПБ — СКН (3,2%), в ряде случаев являясь первой, ранней и единственной манифестацией болезни, особенно при наличии высокопенетрантной мутации М694V.

Таким образом, учитывая большую распространённость ПБ и высокую частоту носительства мутаций в гене *MEFV* у армян для ранней диагностики ПБ, прогноза течения, своевременного лечения и, особенно, предупреждения осложнений необходимо тестирование мутаций в гене *MEFV* как при типичных, так и атипичных формах ПБ у детей, в частности, при ассоциации с васкулитами (ГВ, ЗФМ.) и/или сочетании с иммунными заболеваниями (ЮИА, НАПП, НЯК, БК) особенно при раннем начале и торпидности к терапии, а также при СКН.

Список литературы

1. Айрапетян А.С. Генетические аспекты периодической болезни у армян: Автореф. дисс. на соискание ученой степени д.б.н. — Ереван, 2002. — 36 с.
2. Амарян Г.Г. Периодическая болезнь у детей: клинико-генетические аспекты и современные подходы к лечению: Автореф. дисс. на соискание ученой степени д.м.н. — Ереван, 2010. — 37 с.
3. Саркисян А.А., Амарян Г.Г., Папазян М.М. Саркисян Т.Ф., Санамян А.В. Неамилоидное поражение почек при ПБ у детей // Медицина, наука и образование. — 2009. — Т. 4. — С. 13—16.
4. Cattan D., Notamicola C., Molinari N., Toutou I. Inflammatory bowel disease in non-Ashkenazi Jews with FMF // *Lancet*. — 2000. — Vol. 355. — P. 378—379.
5. Dawson B., Trapp R. Basic and clinical biostatistics. Lange medical Books. — McGrawHill, 2001.
6. Demirkaya E., Yilmaz I., Acikel C. et al. Predictors & survival of FMF related amyloidosis // 7th Intern. Congress of FMF and AIDs. — 2013. — Abstract PW01-027.
7. Esmaeili M., Bonvadi M., Rafeev M. et al. Common MEFV analysis in iranean Azeri Turkish patients with FMF // *Semin. Arthritis Rheum.* — 2008. — Vol. 37. — P. 334—338.
8. Gumucio D.L., Diaz A. et al. The role of pyrin domain-containing proteins in inflammation & apoptosis // *Clin. Exp. Rheum.* — 2002. — Vol. 20 (Suppl. 26). — P. 845—853.
9. Lange-Sperandio B., Mohring K., Gutzler F. et al. Variable expression of vasculitis in siblings with FMF // *Pediatr. Nephrol.* — 2004. — Vol. 19. — P. 539—543.
10. Livneh A., Langevitz P., Zewer D. et al. Criteria for the diagnosis of FMF // *Arthritis Rheum.* — 1997. — Vol. 40. — P. 1879—1885.
11. Livneh A., Langevitz P. Diagnostic and treatment concerns in FMF // *Bailliere's Best Pract. Res., Clin. Rheumatol.* — 2000. — Vol. 14. — P. 477—498.
12. Papazyan M., Nazaryan H., Amarian G. et al. Spectrum of renal involvement in children with FMF // *The 6th Int. Cong. FMF*. — 2010. — P. 261—262.
13. Rigante D., La Torraca I., Ansuni V. et al. The multi-face expression of FMF in the child. // *Eur. Rev. for Med. and Pharmacol. Sci.* — 2006. — 10. — P. 163—171.
14. Sari S., Egritas O., Dalgis B. The FMF gene may be a modifier factor of inflammatory bowel disease in infancy // *Eur. J. Ped.* — 2007.
15. Sarkissian T., Hayrapetyan H., Shahsuvarian G. Molecular Study of FMF patients in Armenia // *Current Drug Targets-Infla. & Allergy*. — 2005. — 4. — P. 113—116.
16. Sarkissian T., Ajrapetyan H., Beglaryan A. et al. Molecular Diagnosis of FMF in Armenians // *The New Armenian Medical Journal*. — 2007. — 1(1). — P. 33—40.
17. Shohat M. FMF // *Gene Reviews*. — 2009. — NCBI Bookshelf.htm
18. Sinan S., Odul E., Dalgic B. The FMF MEFV gene may be a modifier factor of inflammatory bowel disease in infancy // *Eur. J. Pediatr.* — 2007.
19. Taylan A. Leukocytoclastic vasculitis in a patient with FMF // 7th International Congress of FMF and AIDs. — 2013; Abstract YPW02-008.
20. Torosyan Y., Aksentijevich I., Sarkisian T. et al. Role of complex alleles and gender in susceptibility to FMF in the Armenian population // *American Journal of Human Genetics*. — 2000. — Vol. 67, №4. — Suppl. 2.
21. Toutou I., Sarkisian T., Medlej-Hashim M., Tunca M., Livneh A. et al. MEFV mutations & their distribution in different populations of the Mediterranean region // *Arthritis & Rheum.* — 2007. — Vol. 1148. — P. 1—20.
22. Tunca M., Akar S., Onen F. et al. FMF in Turkey: results of Nation wide Multicenter Study // *Medicine*. — 2005. — Vol. 84. — P. 1—11.

Phenotype-genotype correlations in Armenian children with familial Mediterranean fever

Amaryan G.G.^{1,2,3}, Sarkisian T.F.^{3,4}, Hayrapetyan H.S.^{3,4}, Tadevosyan A.E.³¹ — «Arabkir» Joint Medical Center — Institute of Child and Adolescent Health² — National Pediatric Center for familial Mediterranean fever³ — Yerevan State Medical University⁴ — Centre of Medical Genetics and Primary Health Care, Yerevan, Armenia

30 Mamikonyantz str., 0014; 48/3 Abovyan str., 0025; Yerevan, Armenia

Familial Mediterranean Fever (FMF) is a recessively transmitted and ethnically restricted condition prevalent in Armenian, Arab, Jewish population. Severe phenotype with polyserositis (96.5%) was associated with the high penetrance MEFV mutations in exon 10 (M694V — 58.1%), V726A — 20.4%), and M680I — 15.7%). Mild or atypical FMF phenotypes without polyserositis were found in heterozygotes with the low penetrance MEFV mutations in exons 2 and 3 (E148Q and P369S, respectively). In comparison with other populations (Jews, Turks, Arabs), the Armenian children with FMF more frequently developed pleurisy (81.7%), myalgia (37.5%), pericarditis (13.8%), and rare skin lesions (13.4%) mostly as erythepeloid-like erythema, ELE (10.8%). The development of serositis, ELE, splenomegaly and vasculitis (Henoch-Shonlein purpura — HSP, protracted febrile myalgia — PFM) was associated with M694V-homozygous and compound-heterozygous genotypes. FMF-associated vasculitis (HSP, PFM) as well as juvenile idiopathic arthritis (JIA) and non-amyloid renal involvement — NARI (4.7 and 1.1%, respectively) have the higher than expected frequencies. Chronic arthritis may be the first and early manifestation of FMF and usually had severe M694V mutation. The presence of M694V mutation, especially in heterozygous and homozygous genotypes, could be considered as a risk factor for arthritis, causing atypical (in heterozygotes) or severe (in homozygotes) course of FMF. Adhesive intestinal obstruction (AIO) (3.2%) in some cases was the first and only manifestation of FMF, especially in the M694V-carriers. Taking into account the high prevalence of FMF in Armenia, MEFV mutation screening is recommended for patients with atypical symptoms resembling FMF, with some vasculitis, arthritis, inflammatory bowel disease, renal vasculitis and adhesive intestinal obstruction. In addition to improving the early diagnosis of FMF and preventing the development of amyloidosis, this can be especially important in the patients resistant to conventional treatments for the aforementioned FMF-associated pathologies.

Key words: Familial Mediterranean Fever, MEFV gene mutations, phenotype-genotype correlation, Armenian children

Опыт использования комплекса современных методов исследования в конституциональной цитогенетике

Золотухина Т.В.¹, Канивец И.В.¹, Коростелев С.А.², Шилова Н.В.¹, Миньженкова М.Е.¹, Козлова Ю.О.¹, Демина Н.А.¹, Бессонова Л.А.¹, Галкина В.А.¹, Маркова Ж.Г.¹

¹ — Федеральное государственное бюджетное учреждение «Медико-генетический научный центр» Российской академии медицинских наук, Москва, 115478, ул. Москворечье д.1

² — Первый МГМУ им. И.М. Сеченова

С развитием молекулярных методов анализа кариотипа иногда обсуждается целесообразность использования традиционной (conventional) цитогенетической технологии. В то же время исследование хромосом GTG и/или FISH-методами остаются повсеместно востребованными в клинической практике при обследованиях детей с подозрением на наличие у них хромосомных aberrаций. Хромосомный микроматричный анализ (ХМА), т.е. сравнительная геномная гибридизация на чипах, является молекулярным кариотипированием, позволяющим выявить изменения числа копий (CNV) в виде микроделений или микродупликаций, которые невозможно выявить ни FISH, ни GTG-методами. В качестве недостатка метода ХМА отмечается невозможность выявления сбалансированных хромосомных перестроек, полиплоидии и мозаицизма при низком уровне патологического клона. Высокая чувствительность ХМА порой затрудняет интерпретацию выявленных CNV, так как не все из них являются патогенными. Их интерпретация осуществляется при использовании баз данных (OMIM, ISCA, DECIPHER, DGV). В данной работе представлены 3 наблюдения, в которых у всех пациентов выявлен комплекс врожденных пороков развития и значительное отставание в физическом и психомоторном развитии. Однако при стандартном GTG-анализе кариотипы всех пациентов были определены как нормальные. Учитывая наличие патологических признаков у пациентов, для постановки диагноза и поиска возможных микроперестроек во всех представленных случаях был использован метод ХМА с верификацией их FISH-методом.

Ключевые слова:

Введение

Более 40 лет диагностика числовых и структурных хромосомных aberrаций (ХА) в клинической практике была возможна только при использовании стандартного (conventional) кариотипирования с применением обработки хромосомных препаратов раствором трипсина и последующей окраски их раствором Гимзы (GTG-метод). При этом методе дифференциальной окраски оптимально конденсированных хромосом (на уровне 500—550 бэндов) удается выявлять структурные aberrации размером ≥ 10 миллионов пар оснований (м.п.н.). Структурные ХА меньших размеров при этом методе лежат вне возможности визуального анализа. Для успешного анализа ХА большое значение имеет качество хромосомных препаратов: на препаратах должно быть достаточное количество метафазных пластинок с оптимальной спирализацией, позволяющей анализировать хромосомы на уровне 550—850 бэндов. Метод флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH-метод) является высокочувствительным молекулярно-цитогенетическим методом, когда при использовании многоцветных технологий или соответствующих ДНК-зондов, возможно выявление мелких, не видимых при световом микрофотографировании, ХА. FISH-исследование можно осуществлять как при анализе хромосом, так и при анализе флуоресцентных сигналов в интерфазных ядрах. Интерфазная FISH

— высокоинформативный метод при анализе возможного мозаицизма, тем более при низком уровне патологического клона. К недостатку FISH-метода можно отнести его таргетный характер, позволяющий анализировать лишь тот регион хромосомы, который участвует в гибридизации при использовании соответствующего ДНК-зонда. Для уточнения точек разрыва при структурных хромосомных перестройках используются многоцветные FISH-технологии, такие, как mBAND, mFISH, которые позволяют исследовать архитектуру перестроенных хромосом и определить точную локализацию делетированных или дублированных участков хромосом.

Хромосомный микроматричный анализ (ХМА), т.е. сравнительная геномная гибридизация на чипах (array-CGH) по сути является молекулярным кариотипированием. При сравнении соотношения интенсивности флуоресценции при гибридизации ДНК пациента с контрольной ДНК нормального индивидуума выявляются изменения числа копий (CNV) в виде микроделений или микродупликаций, которые не выявляются ни FISH, ни GTG-методами. Вследствие своей высокой чувствительности, превышающей все прочие методы исследований хромосом, ХМА приобретает все большее распространение в клинической практике при выявлении микроструктурных хромосомных перестроек, а также при диагностике комплексных хромосомных пере-

строек, часто образующихся при разнообразных онкологических заболеваниях. Возможность ХМА определять границы микроделений и идентифицировать попадающие в их область гены, позволяет подтверждать диагноз синдромов, связанных с их гаплонедостаточностью.

Высокая чувствительность ХМА порой затрудняет интерпретацию выявленных CNV, поскольку не все они являются клинически значимыми и приводят к проявлению аномального фенотипа. В качестве недостатка метода ХМА отмечается невозможность выявления сбалансированных хромосомных перестроек и мозаицизма при низком уровне патологического клона.

Иногда ставится под сомнение целесообразность использования традиционной (conventional) цитогенетической технологии [5]. Тем не менее, исследование хромосом GTG и/или FISH-методами остаются повсеместно востребованными в клинической практике при обследованиях детей с «хромосомной симптоматикой», т.е. с подозрением на наличие у них ХА. Это — пациенты с умственной отсталостью, задержкой физического и/или психомоторного развития и множественными аномалиями развития [9, 11, 12]. Кроме того, FISH-метод необходим при диагностике мозаицизма низкого уровня, когда можно провести анализ сигналов в нескольких сотнях интерфазных ядер.

В данной работе представлены 3 наблюдения, в которых мы столкнулись со сложностью при выявлении и интерпретации хромосомных перестроек. При медико-генетическом консультировании у всех пациентов выявлен комплекс врождённых пороков развития и значительное отставание в физическом и психомоторном развитии. При стандартном GTG-анализе хромосом кариотипы всех пациентов были определены как нормальные. Учитывая наличие множественных патологических признаков у пациентов, для окончательной постановки диагноза и поиска возможных микроструктурных хромосомных перестроек во всех представленных случаях был использован комплекс современных методов диагностики в конституциональной цитогенетике — методы GTG, FISH и ХМА.

Материал и методы

Были обследованы три ребёнка в возрасте 1,5, 2,5 и 9 лет, родители которых обратились на медико-генетическую консультацию в поликлиническое отделение ФГБУ «МГНЦ» РАМН по поводу задержки и аномалий развития. Во всех наблюдениях уже в период новорождённости у детей были отмечены аномалии развития, послужившие причиной направления их на исследование кариотипа. Хромосомный анализ проводили на препаратах ФГА-стимулированной культуры лимфоцитов периферической крови, приготовленных стандартным методом. По прошествии нескольких лет после рождения пациенты были вновь обследованы и у них

были подробно описаны клинические проявления, не укладывающиеся в какой-либо генетический синдром. Образцы ДНК пациентов были направлены на ХМА.

Для ХМА были использованы олигонуклеотидные микроматрицы высокой плотности Cytoscan™ HD (Affymetrix®, США), содержащие 2 696 550 маркёров (1 953 246 непалиморфных маркёров и 749 157 SNPs). Дизайн матрицы обеспечивает полногеномное покрытие с увеличенной плотностью покрытия генов, рекомендованных ISCA, OMIM-аннотированных генов, связанных с пороками развития, задержкой развития и расстройствами аутистического спектра, а также хромосомы X по сравнению с олигонуклеотидными микроматрицами HumanCytoSNP-12 BeadChip (Illumina, США) и микроматрицами SurePrint G3 Human CGH Microarray, 1x1M (Agilent, США). Все стадии лабораторного этапа анализа проводились в соответствии с протоколом производителя (Affymetrix®, США).

Анализ полученных данных проводился с помощью программы Chromosome Analysis Suite (ChAS) (версия 2.0). Оценка патогенности обнаруженного дисбаланса проводилась с использованием баз данных OMIM, ISCA, DECIPHER и DGV. Молекулярный кариотип был указан в соответствии с ISCN 2013.

Флуоресцентную *in situ* гибридизацию (FISH-метод) проводили с использованием ДНК-зондов: wcp13, wcp14, wcp21, TelVysion 6p, TelVysion 6q, TelVysion 11p, TelVysion 11q, (Abbott Molecular). Денатурация, гибридизация с использованием системы ThermoBrite StatSpine (Abbott Molecular) и постгибридизационная отмывка проводились по протоколам фирм-производителей. FISH-анализ осуществлялся на люминисцентном микроскопе AxioImager.M1 (ZEISS) с использованием программы цифрового анализа изображения Isis (MetaSystems, Germany).

Результаты и обсуждение

Случай 1

Ребёнок К.А. 1,5 года. Родился на 36 неделе беременности с выраженными аномалиями глаз, лица, ушных раковин, головного мозга, грудных позвонков и пальцев: врождённая катаракта, утолщённые низкорасположенные уши, гипертелоризм, широкая переносица, птоз, микрогения, рот карпа, короткая шея с ограничением поворотов головы, контрактуры крупных суставов с камптодактилией, частичная синдактилия 2—3 пальцев ног, аномалия развития 4-го пальца ноги, поперечные складки на ладонях, судороги, расщепление тел 8 и 12 грудных позвонков, гипоплазия правой почки, правосторонний крипторхизм, микропенис. Не сидит, не ходит, на живот не переворачивается. Дыхание со стридорозным оттенком. Голова неправильной формы с очень плотными костями черепа, большой родничок открыт. Окружность головы 41 см. Зубов нет. Гипертрофия альвеолярного края верхней челюсти. МРТ — рас-

ширение тел боковых желудочков мозга, наличие полости прозрачной перегородки. Проведена дифференциальная диагностика с синдромом Шварца—Джампела и синдромом COFS (церебро-окуло-фацио-скелетный синдром) — мутации соответствующих генов не обнаружены.

В результате ХМА была обнаружена дупликация длинного плеча 6 хромосомы, захватывающая регионы 6q25.2-6q27, размером 16 670 545 п.н. Обнаруженная дупликация содержит множество OMIM-аннотированных генов, однако не связана ни с каким из описанных в этой базе данных микродупликационных синдромов. В базах данных ISCA и DECIPHER обнаруженная дупликация была описана как патогенная, связанная с задержкой развития и лицевыми дизморфиями.

Также была обнаружена делеция длинного плеча хромосомы 11, захватывающая регионы 11q24.1-q25, размером 12 231 399 п.н. Обнаруженная делеция содержит множество OMIM-аннотированных генов, однако не связана ни с каким из описанных в этой базе данных микроделеционных синдромов. В базах данных ISCA и DECIPHER обнаруженная делеция была описана как патогенная, связанная с задержкой развития и лицевыми дизморфиями. Обнаруженные перестройки ни разу не индексировались в DGV (база данных нормальных геномных вариаций). Таким образом, молекулярный кариотип пациента представляется как:

arr[hg19] 6q25.2q27 (154,248,937- 170,919,482) x3,11q24.1q25 (122,707,071- 134,938,470) x1.

При получении результата ХМА, обнаружившего терминальную делецию длинного плеча хромосомы 11 и одновременную терминальную дупликацию длинного плеча хромосомы 6, мы предположили, что причиной такого хромосомного дисбаланса является несбалансированная транслокация между хромосомами 6 и 11. FISH-исследование с соответствующими субтеломерными ДНК-зондами на p и q плечи этих хромосом (subtel 6 p/q и subtel 11 p/q) подтвердило наличие в кариотипе ребёнка дериватной хромосомы 11, на длинном плече которой имелся транслоцированный субтеломерный район длинного плеча хромосомы 6 (рис. 1 на 2-й странице обложки). Молекулярно-цитогенетическое исследование было также проведено родителям пациента и у отца были выявлены две дериватные хромосомы — хромосома 11, содержащая на длинном плече субтеломерный район q-плеча хромосомы 6 и хромосома 6, содержащая на длинном плече субтеломерный район q-плеча хромосомы 11, т.е. сбалансированная транслокация между хромосомами 6 и 11.

Удивительно, что при повторном цитогенетическом исследовании, когда были известны результаты МХА и молекулярно-цитогенетического исследования, ни у отца, ни у ребёнка транслокация так и не была идентифицирована, несмотря на значительный размер делетированных и дублицированных участков хромосом (более 12 и 16 млн п.н.). Размер транслоцированных участков

хромосом примерно одинаков, и обмен этими участками при транслокации не изменил морфологию (центромерный индекс) дериватных хромосом. Более того, «рисунк» G-бэндинга в транслоцированных сегментах на дериватных хромосомах был похож на таковой в соответствующих участках нормальных гомологов. Поэтому идентифицировать ни эту реципрокную транслокацию у отца, ни вариант её патологической сегрегации у ребёнка при стандартном цитогенетическом исследовании не представлялось возможным. Только на основании проведённого комплекса молекулярных и молекулярно-цитогенетических исследований стало возможным выявить эту наследуемую хромосомную перестройку. Установление точек разрывов при ХМА позволило определить кариотип отца как 46,XY,t(6;11)(q25.2;q24.1), а больного ребёнка как 46,XY,der(11)t(6,11)(q25.2;q24.1)pat. Кариотип матери по результатам стандартного и молекулярно-цитогенетического исследований нормальный.

Таким образом, хромосомный дисбаланс у ребёнка обусловлен несбалансированной транслокацией между хромосомами 6 и 11 отцовского происхождения, вследствие частичной трисомии по району q25.2-q27 хромосомы 6, и частичной моносомии по району q24.1-q25 хромосомы 11.

Случай 2.

Ребёнок В.А., 2 года 10 мес. Родился в срок. Вес 2580 г, рост 48 см, окр. головы 34 см. При рождении отмечена неврологическая симптоматика, задержка внутриутробного развития, стигмы дисэмбриогенеза: мелкие черты лица, низкий рост волос на лбу, микрофтальмия, билатеральная колобома радужек, низкорасположенные маленькие ушные раковины, камптодактилия, «стопа-качалка», двухсторонний крипторхизм, головчатая гипоспадия, дефект межжелудочковой перегородки, гипоплазия мозолистого тела, кисты сосудистых сплетений, на ЭЭГ — эпилептиформная активность не зарегистрирована. Осмотр в 2 года: рост 71 см, вес 9200 г, окр. головы 46 см. Задержка психомоторного развития (не сидит, не ходит, не говорит), врождённые аномалии развития: укорочение конечностей, череп вытянут в передне-заднем направлении, тонкие губы, высокое небо, сглаженный фильтр, поперечные ладонные складки, камптодактилия, укорочение 1-х пальцев рук, плосковальгусные стопы с избыточным сгибанием, ограничение подвижности в суставах (сгибательные контрактуры).

В результате ХМА была обнаружена дупликация длинного плеча хромосомы 14, захватывающая регионы 14q11.2-q21.1, размером 21 652 457 п.н. Обнаруженная дупликация содержит множество OMIM-аннотированных генов, однако не связана ни с каким из описанных в этой базе данных микродупликационных синдромов. В базах данных ISCA и DECIPHER обнаруженная дупликация была описана как патогенная, связанная с задержкой развития и лицевыми дизморфиями.

Также была обнаружена делеция длинного плеча хромосомы 21, захватывающая регионы 21q11.2-q21.3, размером 14 421 641 п.н. Обнаруженная делеция содержит множество OMIM-аннотированных генов, однако не связана ни с каким из описанных в этой базе данных микроделеционных синдромов. В базах данных ISCA и DECIPHER обнаруженная делеция была описана как патогенная, связанная с задержкой развития и лицевыми дизморфиями. Обнаруженные делеция и дупликация ни разу не индексировались в DGV. Таким образом, молекулярный кариотип пациента представляется как: arr[hg19] 14q11.2 (20,600,322- 42,252,779) x3,21q11.2 (15,006,457- 29,428,098) x1.

Наличие одновременного геномного дисбаланса в виде делеции и дупликации в интерстициальных участках акроцентрических хромосом позволило предположить у ребёнка несбалансированный вариант транслокации между хромосомами 14 и 21 вследствие совместного-2 типа патологической сегрегации. Для подтверждения дисбаланса и определения локализации перестроенных локусов хромосом было проведено FISH-исследование с цельно-хромосомными ДНК-зондами на хромосомы 14 и 21 (wcp14, wcp 21). В результате FISH-анализа выявлено наличие транслокации между хромосомами 14 и 21 с образованием дериватной хромосомы 14, состоящей из короткого и части длинного плеча хромосомы 14 (pter→q21.1) и длинного плеча хромосомы 21 (q21.3→qter) (рис. 2 на 3-й странице обложки). Молекулярно-цитогенетическое исследование было также проведено родителям, у отца выявили реципрокную транслокацию между хромосомами 14 и 21 с теми же точками разрывов. При повторном GTG-анализе хромосом пациента и отца на уровне 550-бэндов кариотип отца был определен как 46,XY,t(14;21) (q21.1;q21.3), а кариотип пациента как 46,XY,+der(14)t(14;21) (q21.1;q21.3)pat,-21. Кариотип матери нормальный. Таким образом, дисбаланс хромосомного материала и аномалии фенотипа у ребёнка обусловлены несбалансированным вариантом сегрегации реципрокной транслокации отцовского происхождения, приведшей к частичной моносомии района q11.2-q21.3 хромосомы 21 и частичной трисомии района q11.2-q21.1 хромосомы 14.

Случай 3

Ребёнок К.В., 9 лет, родился с признаками внутриутробной гипертрофии. В период новорождённости отмечены: отставание психомоторного развития, микроцефалия, аномалия лицевых структур, ушных раковин, эпикант, брахидактилия. В связи с наличием отставания развития и множественных аномалий развития. При осмотре в 9 лет — отставание психомоторного развития, микроцефалия, монголоидный разрез глаз, маленькие ушные раковины чашеобразной формы, укорочение глазных щелей, эпикант/телекант, брахидактилия, олигофрения, имбецильность.

ДНК пациента была направлена на ХМА, в результате которого определена делеция участка длинного плеча хромосомы 13, захватывающая регионы 13q11q12.12, размером 5 564 778 п.н. Обнаруженная делеция ни разу не индексировалась в базе данных DGV. Также была обнаружена дупликация участка длинного плеча хромосомы 14, захватывающая регионы 14q11.2q12, размером 8 591 966 п.н. Подобные дупликации ни разу не индексировались в базе данных DGV. Обнаруженные перестройки содержат множество OMIM-аннотированных генов, однако не связаны ни с каким из описанных в этой базе данных микроделеционных синдромов. В базах данных ISCA и DECIPHER обнаруженные перестройки были описаны как патогенные, связанные с задержкой развития и лицевыми дизморфиями. Молекулярный кариотип пациента: arr[hg19] 13q11q12.2 (19,436,286- 25,001,064) x1,14q11.2q12 (20,511,672- 29,103,638) x3.

Учитывая характер геномного дисбаланса и наличие точек разрывов в проксимальных отделах акроцентрических хромосом, мы предположили наличие у ребёнка несбалансированной транслокации между хромосомами 13 и 14 вследствие совместного-2 типа патологической сегрегации. Это позволило выбрать соответствующие ДНК-зонды и определить дизайн молекулярно-цитогенетического исследования. Для уточнения локализации транслоцированных участков хромосом было проведено FISH-исследование с цельно-хромосомными ДНК-зондами на хромосомы 13 и 14 (wcp 13, wcp14). Результаты FISH-анализа подтвердили наличие транслокации между хромосомами 13 и 14 с образованием дериватной хромосомы 14, состоящей из короткого и части длинного плеча хромосомы 14 (pter→q11.2) и длинного плеча хромосомы 13 (q11→qter) (рис. 3 на 4-й странице обложки). При молекулярно-цитогенетическом исследовании родителей с использованием тех же ДНК-зондов было установлено, отец является носителем реципрокной транслокации между хромосомами 13 и 14. К учетом точек разрывов, выявленных при ХМА, кариотип отца определён как 46,XY,t(13,14) (q11;q11.2), кариотип ребёнка — 46,XY,-13,+der(14)t(13;14) (q11;q11.2)pat. Таким образом фенотип пациента был обусловлен моносомией района q11-q12.11 хромосомы 13, и трисомией района q11.2-q12 хромосомы 14. Кариотип матери нормальный.

При повторном цитогенетическом исследовании (имея сведения о результатах молекулярного и молекулярно-цитогенетического исследования), идентифицировать транслокацию ни у отца-носителя транслокации, ни у больного ребёнка с несбалансированным её вариантом, не представлялось возможным. В отличие от случая 2, когда точки разрывов на обеих акроцентрических хромосомах располагались дистальнее, в данном случае дифференцировать нормальные гомологи от дериватных хромосом было невозможно даже на хромосомах с уровнем разрешения 550-бэндов.

Таким образом, в случаях 1 и 3 поставить цитогенетический диагноз больному ребёнку и установить случаи семейного носительства реципрокных транслокаций удалось только при использовании молекулярных и молекулярно-цитогенетических методов исследования, из-за определённого вида этих хромосомных перестроек. В случае 2 установить природу хромосомной перестройки у пациента было возможно при стандартном цитогенетическом исследовании, но только при GTG-анализе хромосом на уровне не менее 550-бэндов.

Трудности диагностики несбалансированной транслокации (14;21) с точками разрывов в проксимальных районах хромосом (как в случае 2), были обусловлены тем, что при совместном-2 типе патологической сегрегации, который наиболее часто возникает в гаметогенезе у носителей этой транслокации и приводит к формированию жизнеспособных зигот с aberrантным кариотипом, происходит потеря одного из нормальных гомологов и замещение его дериватной хромосомой, морфологически и по характеру G-бэндинга сходной с хромосомой 21. Поэтому при недостаточно хорошем дифференциальном окрашивании коротких, на уровне 300–450 бэндов несбалансированный кариотип может быть не диагностирован.

Несомненно, современный метод ХМА имеет высокое разрешение при диагностике генетических нарушений (дисбаланса), размером менее 10 млн п.н. В зависимости от разрешающей способности использованной микроматрицы при ХМА, молекулярное кариотипирование позволяет анализировать весь геном человека, выявлять при этом варианты числа копий ДНК и определять их патогенность или безвредность. В настоящее время считается, что для некоторых ситуаций, в частности, при недифференцированной умственной отсталости у детей, ХМА является первичным тестом (first tier test) при исследовании генома пациентов, так как у этих пациентов в 10–20% наблюдений выявляются именно микроперестройки — микроделеции и микродуплика-

ции, неразличимые при визуальном хромосомном анализе [1, 7]. Показано, что использование ХМА позволяет повысить выявляемость хромосомного дисбаланса на 10% и более по сравнению со стандартным кариотипированием [8, 10]. Кроме того ХМА позволяет анализировать ДНК, извлечённую из любых некультивированных тканей человека (даже постмортально), что расширяет возможности и точность исследования, а также сокращает время и этапы ручной манипуляций при анализе генетических нарушений.

В недавней обширной работе коллег из детского госпиталя в Хьюстоне (США) были сравнены результаты цитогенетических анализов, полученных при параллельном использовании всех трех методов — GTG, FISH и ХМА. При обследовании 3710 пациентов с различным комплексом врождённых дефектов, включая умственную отсталость и пороки развития, продемонстрирована целесообразность и ценность каждого из использованных методов. Отдавая должное преимуществу методу ХМА в диагностике хромосомных микроперестроек, авторы подтвердили невозможность выявления методом ХМА сбалансированных транслокаций, инсерций и инверсий и мозаицизма при уровне патологического клона менее 30%. В этих случаях хромосомные аномалии могут быть диагностированы при стандартном хромосомном анализе. Кроме того, эффективность выявления ХА методом ХМА зависит от типа (вида) микроматрицы, использованной при сравнительно-геномной гибридизации. [3].

Несбалансированные хромосомные перестройки в виде дупликации (gain) или делеции (loss), выявление методом ХМА, не дают информации об их топографическом расположении (локализации) на хромосомах, т.е. нет данных о структуре хромосомных перестроек. Эта информация доступна лишь при анализе GTG-окрашенных хромосомных препаратов оптимальной спирализации на уровне не менее 550 бэндов.

Таблица

Результаты молекулярно-цитогенетического исследования

№	Результат ХМА	Делеция (размер)	Дупликация (размер)	FISH-зонды	Результат FISH-анализа	Цитогенетический диагноз
1.	arr[hg19] 6q25.2q27 (154,248,937-170,919,482) x3 11q24.1q25 (122,707,071-134,938,470)x1	11q24.1-q25 (12 231 399 п.н.)	6q25.2-q27 (16 670 545 п.н.)	subtel 6, subtel 11	ish der(11)t(6;11)(q27+;q25-)(5QTE L54+; D11S1037-)pat	46,XY,der(11)t(6;11)(q25;q24.1)pat
2.	arr[hg19]14q11.2q21.1 (20,600,322-42,252,779) x3 21q11.2q21.3 (15,066,457-29,428,098)x1	21q11.2-q21.3 (14 421 641 п.н.)	14q11.2-q21.1 (21 652 457 п.н.)	wcp 14, wcp 21	ish der(14)t(14;21)(wcp14+;wcp21+)	46,XY,+der(14)t(14;21)(q21.1;q21.3)pat,-21
3.	arr[hg19]13q11q12.2 (19,436,286-25,001,064) x1, 14q11.2q12 (20,511,672-29,103,638)x3	13q11-q12.11 (5 564 778 п.н.)	14q11.2-q12 (8 591 966 п.н.)	wcp13, wcp14	ish der(14)t(13;14)(wcp14+;wcp13+)pat	46,XY,-13,+der(14)t(13;14)(q11;q11.2)pat

В отличие от FISH-метода стандартный GTG-метод, позволяет получить дополнительную информацию о наличии эухромотиновых и гетерохромотиновых локусов хромосом, вовлечённых в перестройку. К этому методу рекомендовано вернуться после получения результатов FISH и ХМА.

Идентификация структурных перестроек важна для аргументированного генетического консультирования семьи. Учитывая различные варианты сегрегации хромосом в перестроенном геноме, важно предполагать возможность редких, необычных вариантов сегрегации, которые могут быть пропущены при GTG-методе исследования. Кроме того, диагностика структурной ХА у ребёнка является обязательным показанием для кариотипирования родителей, с применением соответствующих методов анализа, и выяснения характера перестройки — наследственной или *de novo* [3].

Интерпретация случаев, когда у ребёнка с множественными аномалиями развития и/или умственной отсталостью при стандартном хромосомном анализе выявляется либо нормальный кариотип, либо «по-видимому» сбалансированные перестройки хромосом, проблематична как при наследственных, так и при *de novo* перестройках. Используемый в этих случаях ХМА позволяет выявить вблизи точек разрывов изменение числа копий — CNV, невидимых при микроскопировании [6, 13]. В связи с этим, риск развития заболевания у пациентов при «по-видимому» сбалансированных транслокациях или инверсиях, возникших *de novo*, составляет 6—7% [14]. Но и ХМА не всегда может идентифицировать мелкие (cryptic) делеции/дупликации в точках разрывов, если при анализе использован не полногеномный подход, а таргетный, обладающий недостаточным разрешением.

Для многих синдромов, обусловленных ХА, характерны лицевые дизморфии, постнатальная задержка развития, пороки развития и умственная отсталость. Комбинация различных подходов, включая кариотипирование, FISH и ХМА позволяет идентифицировать гены, ассоциированные с болезнями или фенотипическими проявлениями [4, 2].

В представленной работе при исследовании трёх пациентов с глубокой задержкой развития и врождёнными аномалиями лица, черепа и конечностей был использован комплекс широко используемых в клинической практике методов лабораторной диагностики ХА. В работе подчеркивается, что наличие патологических клинических признаков у пациентов с нормальным GTG-кариотипом требует использования более чувствительного метода диагностики, каким является ХМА.

Список литературы

1. Ahn J.W., Bint S., Bergbaum A., Mann K. et al. Array CGH as a first line diagnostic test in place of karyotyping for postnatal referrals — results from four year's clinical application for over 8,700 patients // *Molecular Cytogenetics*. — 2013. — Vol. 6. — P. 16.
2. Baptista J., Mercer C., Prigmore e. et al. Breakpoint mapping and array CGH in translocations: comparison of a phenotypically normal and an abnormal cohort // *Am. J. Hum. Genet.* — 2008. — Vol. 82. — P. 927—936.
3. Bi W., Borgan C., Pursley A.N. et al. Comparison of chromosomal analysis and chromosomal microarray analysis :what is the value of chromosome analysis in today's genomic era? // *Genetic in Medicine*. — DOI:10.1038/gim.2012.153
4. Bugge M., Bruun-Petersen G., Brondum-Nielsen K., et al. Disease associated balanced chromosome rearrangements: a resource for large scale genotype/phenotype delineation in man // *J. Med. Genet.* — 2000. — Vol. 37. — P. 858—865.
5. Bui T.H., Vetro A., Zuffardi O., Shaffer L.G. Current controversy siesin prenatal diagnosis3: is conventional analysis necessary in the post-array CGH era? // *Prenat. Diagn.* — 2011. — Vol. 31. — P. 235—243.
6. De Gregori M., Ciccone K., Magini P. et al. Cryptic deletions are common finding in «balanced» reciprocal and complex chromosome rearrangements: a study of 59 patients // *J. Med. Genet.* — 2007. — Vol. 44. — P. 750—762.
7. Gijsbers A.C., Lew J.Y., Bosch C.A. et al. A new diagnostic workflow for patients with mental retardation and/or multiple congenital abnormalities: test arrays first // *Europ. J. of Hum. Genet.* — 2009. — Vol. 17. — P. 1394—1402.
8. Lu X., Shaw C.A., Patel A. et al. Clinical implementation of chromosomal microarray analysis: summary of 2513 postnatal cases // *PLOS ONE*. — 2007. — Vol. 2. — P. e327.
9. Lybaek H., Meza-Zepeda L.A., Kresse S.H. Array-CGH fine mapping of minor and cryptic HR-CGH detected genomic imbalances in 80 out of 590 patients with abnormal development // *Europ. J. of Human Genet.* — 2008. — Vol. 16. — P. 1318—1328.
10. Miller D.T., Adam M.P., Aradhya S. et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies // *Am. J. Hum. Genet.* — 2010. — Vol. 86. — P. 749—764.
11. Nowakowska B., Stankiewicz P., Obersztyn E. et al. Application of metaphase HR-CGH and targeted chromosomal microarray analysis to genomic characterization of 116 patients with mental retardation and dysmorphic features // *Am. J. Med. Genet.* — 2008. — Vol. 146A. — P. 2361—2369.
12. Shaffer L.G., Bejjani B.A., Torchia B. et al. The identification of microdeletion syndromes and other chromosome abnormalities: cytogenetic methods of the past, new technologies for the future // *Am. J. Med. Genet.* — 2007. — Vol. 145C. — P. 335—345.
13. Schluth-Bolard C., Delobel B., Sanlaville et al. Cryptic genomic imbalances in de novo and inherited apparently balanced chromosomal rearrangements: array CGH study of 47 unrelated cases // *Europ. J. of Hum. Genet.* — 2009. — Vol. 52. — P. 291—296.
14. Warburton D. De novo balanced chromosome rearrangements and extra marker chromosomes identified at prenatal diagnosis: clinical significance and distribution of breakpoints // *Amer. J. Hum. Genet.* — 1991. — Vol. 49. — P. 995—1003.

The use of a complex of modern methods of research in constitutional cytogenetics

Zolotukhina T.V.¹, Kanivets I.V.¹, Korostelev S.A.², Shilova N.V.¹, Minzhenkova M.E.¹,
Kozlova Y.O.¹, Demina N.A.¹, Bessonova L.A.¹, Galkina V.A.¹, Markova Zh.G.¹

¹ — Federal State Budgetary Institution «Research Centre for Medical Genetics» under Russian Academy of Medical Genetics

² — I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

The conventional cytogenetic method practicability is been deliberated with the extension of use of molecular techniques. At the same time GTG-banding and/or FISH analysis are widely used in clinical practice when chromosomal aberration is presumed in children with abnormal phenotype. Array-CGH allows revealing Copy Number Variations (CNV) realized in microdeletions or microduplications, which are unable to reveal by FISH or GTG methods. It is known that array-CGH has its drawbacks, such as inability to detect balanced chromosomal translocations, polyploidies and low-level mosaicism. While high sensitivity of this method at times impedes revealed CNV interpretation. Presented herein are three cases of genomic aberrations revealed in patients with complex developmental defects and significant physical and psychomotor delay with normal karyotype. Array-CGH analysis showed major genomic defects in these patients subsequently verified by FISH method.

Key words:

Селективный скрининг на болезнь Фабри

Голивец Л.Т.^{1,2}, Круглова О.В.³, Гусарова Е.А.¹, Цыганкова П.Г.¹, Захарова Е.Ю.¹

¹ — Федеральное государственное бюджетное учреждение «Медико-генетический научный центр» Российской академии медицинских наук, Москва, 115478, ул. Москворечье д. 1

² — ОГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа»

³ — ГБУЗ «Самарская областная клиническая больница им. М.И. Калинина»

С целью улучшения диагностики болезни Фабри (БФ) в РФ проведён селективный скрининг среди пациентов групп высокого клинического риска. Биохимическая диагностика БФ — измерение активности альфа-галактозидазы, альфа-галактозидазы А — проводилась в пятнах высушенной крови. С целью оптимизации данного метода в лаборатории наследственных болезней обмена веществ активности данных ферментов были измерены в пятнах высушенной крови 25 пациентам мужского пола с установленным диагнозом «болезнь Фабри», 14 женщинам — гетерозиготным носительницам заболевания и 200 чел. группы контроля. Определена чувствительность и специфичность теста и оптимальные отрезные точки активности ферментов альфа-галактозидазы, альфа-галактозидазы А. На скрининг было направлено 612 пациентов из нефрологических отделений, включающих отделения гемодиализа, неврологических и кардиологических отделений. БФ выявлена у трех пациентов группы скрининга — у двух мужчин и одной женщины. Разработан алгоритм лабораторной диагностики БФ.

Ключевые слова: болезнь Фабри (БФ), селективный скрининг, α -галактозидаза А (АГАЛ А), ген *GLA*, пятна высушенной крови

Введение

БФ (ММ 301500) — заболевание из класса наследственных нарушений обмена веществ, связанное со снижением активности лизосомного фермента альфа-D-галактозидазы А (АГАЛ А). Заболевание обусловлено мутациями в гене *GLA*, картированном на Xq22.1 и имеет Х-сцепленный тип наследования [2, 19].

БФ является панэтническим заболеванием, частота его составляет 1:40000—1:60000 новорождённых мужского пола [15]. Однако исследования, проведённые в разных странах, показывают, что диагностика БФ недостаточна, и, возможно, истинная частота этого заболевания остается недооцененной [7, 8, 14, 16]. Клиническая картина БФ отличается большим разнообразием, описаны мягкие, атипичные формы болезни с поздней манифестацией, довольно часто ранние проявления БФ могут быть изначально расценены как проявления другого заболевания. Одним из подходов, улучшающих диагностику редких заболеваний, к которым относится и БФ, является селективный скрининг (ССК) среди групп риска, что позволяет вовремя начать специфическое лечение и в некоторых случаях избежать тяжелой инвалидизации больных.

В публикации представлены результаты селективного скрининга на БФ, проведённого среди 612 пациентов. ССК позволил идентифицировать 3 больных и в ходе семейного анализа были выявлены ещё 3 пациента.

Материал и методы исследования

Формирование выборки больных для проведения селективного скрининга

Для проведения ССК на основании литературных данных нами были разработаны критерии отбора паци-

ентов [3, 4, 6]. Кроме патологии основных органов-мишеней (центральной и периферической нервной системы, сердца, почек) были включены следующие дополнительные критерии: ангиокератомы, гипо-/ангидроз, помутнение роговицы. На ССК направлялись пациенты, имеющие хотя бы один основной и/или два и более дополнительных критерия. Учитывая особенности клинических проявлений для женщин, в ССК были отобраны пациентки, имевшие хотя бы один из клинических критериев (табл. 1). Все пациенты или их представители оформляли информированное согласие.

Выборка формировалась из пациентов отделений нефрологии, кардиологии, неврологии. Всего на скрининг было отправлено 612 пациентов, 560 мужчин и 52 женщины. Наибольшее число пациентов — из отделений нефрологии и гемодиализа — 299 пациентов (48,9% от общего числа больных). Также было обследовано — 145 пациентов (23,7%) из психоневрологических отделений и 112 пациентов (18,3%) из кардиологических клиник. Средний возраст мужчин составил 37,5 лет (5—86 лет), средний возраст женщин составил 30,0 лет (10—77 лет).

Определение активности ферментов

На первом этапе проведения ССК определяли активность общей альфа-галактозидазы (АГАЛ) и альфа-галактозидазы А (АГАЛ А) в пятнах высушенной крови (DBS) по методу, предложенному Chamole N.A. с соавторами [5]. В качестве искусственного субстрата для определения активности АГАЛ использовали 4-метилумбеллиферил- α -D-галактопиранозид, для подавления активности альфа-галактозидазы В (АГАЛ В) и определения активности АГАЛ А применяли ингибитор N-ацетил-галактозамин. С целью контроля качества

транспортировки образцов измеряли активность контрольного фермента — β -галактозидазы с использованием субстрата 4-метилумбеллиферил- β -D-галактопиранозид. С целью оптимизации биохимического теста проведено определение активности АГАЛ и АГАЛ А у 25 пациентов с БФ, диагноз которым был установлен ранее, с применением биохимических методов (определение активности АГАЛ в лейкоцитах крови) и/или молекулярно-генетическими методами, 14 женщин — гетерозиготных носительниц БФ. В группу контроля вошло 200 соматически здоровых лиц мужского (100 чел. в возрасте 17–60 лет) и женского пола (100 чел., возраст 20–60 лет) из различных регионов России. Для определения отрезных точек активностей АГАЛ и АГАЛ А использовался метод ROC (receiver operating characteristic) анализа [1].

ДНК-диагностика

Молекулярно-генетическое исследование проводилось с применением стандартных методов с помощью прямого автоматического секвенирования всех экзонов и прилегающих к ним интронов гена *GLA*. Олигонуклеотидные праймеры подбирали согласно референсной последовательности NG_007119.1 Последовательность олигонуклеотидных праймеров возможно предоставить по запросу.

Результаты и обсуждение

Для редких заболеваний, имеющих разнообразные клинические проявления, ССК может являться одним из эффективных подходов для улучшения их диагностики. БФ относится к категории наиболее трудно диагностируемых наследственных болезней обмена веществ.

Так, в ряде случаев, сроки между началом заболевания и установлением диагноза составляют несколько лет [18]. Поскольку ведущими клиническими симптомами при БФ может быть поражение почек, транзиторные ишемические атаки, акропарестезии, кардиомиопатия в группы риска отбирают пациентов, прежде всего из отделений гемодиализа, неврологии и кардиологии. Проведенный нами ССК является первым опытом по выявлению БФ среди пациентов группы риска. Для проведения скрининга на БФ в качестве первого «скринирующего» теста был выбран метод определения активности фермента в DBS с использованием флюоригенного субстрата. Поскольку до начала данной работы тест по определению активности ферментов (АГАЛ и АГАЛ А) в DBS в лаборатории не применялся, была проведена предварительная работа по оптимизации данного теста и установления его чувствительности и специфичности.

Определение активности ферментов в пятнах высушенной крови

Определение активности лизосомных ферментов является «золотым» стандартом диагностики большинства заболеваний из этой группы. Идеальным материалом для проведения исследований являются лейкоциты периферической крови, плазма крови и культура кожных фибробластов. Последнее время были адаптированы методы по определению активности лизосомных ферментов и для DBS [10, 12]. В образцах DBS содержится меньше материала, но они более стабильны, чем образцы цельной крови и при комнатной температуре DBS могут храниться несколько месяцев. Кроме того, такие образцы наиболее удобны для транспортировки [12, 13]. Данные литературы, касающиеся чувствительности и спе-

Критерии отбора пациентов на селективный скрининг по БФ

Таблица 1

Основные клинические критерии		Возраст манифестации
Патология ССС	ГЛЖ неясного генеза	С подросткового периода (2-я декада жизни)
	ИБС: аритмии, стенокардия, инфаркты, сердечная недостаточность	С 3-й — 4-й декады жизни
Патология почек	ХБП (микроальбуминурия, гиперфилтрация)	С детского/подросткового периода
	ХБП (протеинурия, снижение СКФ, нарастание креатинина)	С 4-й — 5-й декады жизни
Патология ЦНС	Криптогенные инсульты (неясный генез инсультов, ТИА, преходящие нарушения мозгового кровообращения)	С 3-й — 4-й декады жизни
Дополнительные критерии		
Периферическая нейропатия	Акропарестезии	С 1-й декады жизни
	Абдоминалгии	
Кожная патология	Гипогдроз/ангидроз	С 1-й декады жизни
	Ангиокератомы	Со 2-й декады жизни
Патология органа зрения	Помутнение роговицы, катаракта	Со 2-й декады жизни
Патология органа слуха	Нейросенсорная тугоухость	С 6-й декады жизни

Таблица 2

Активность А-ГАЛ и АГАЛ А в пятнах высушенной крови

Группы/Ферменты	Общая АГАЛ (нМ/пятно*45 ч)	АГАЛ А (нМ/пятно*45 ч)
Контроль (n = 200)	0,13–1,73	0,08–0,75
Пациенты с БФ (мужчины) (n = 25)	0–0,14	0,0–0,04
Гетерозиготные носительницы БФ (n = 14)	0,04–1,49	0,01–0,15

цифичности метода по определению активности фермента в пятнах крови очень сходны в разных исследованиях. Так, по данным Hagege A.A. с соавторами, специфичность теста составляет 100%, чувствительность 82% — для мужчин и 66% — у женщин [6].

Активность фермента АГАЛ в пятнах крови была измерена у 25 пациентов мужского пола, страдающих БФ, у 14 женщин — гетерозиготных носительниц БФ и 200 контрольных образцов (табл. 2).

Диапазон значений А-ГАЛ А у мужчин, страдающих БФ, лежит ниже и не «перекрывается» с соответствующими интервалами активностей АГАЛ А в группе контроля, в отличие от показателя АГАЛ, где наблюдается «перекрывание» минимума значений активности АГАЛ у пациентов с максимумом АГАЛ в группе контроля. У женщин — гетерозиготных носительниц интервал показателей активности АГАЛ А «перекрывался» с интервалом минимума — максимума значений активности данного фермента в группе пациентов и частично — с межквартильным интервалом в группе контроля (рис. 1, 2).

Таким образом, применение ингибитора фермента АГАЛ В повышает достоверность тестирования при использовании пятен высушенной крови.

С целью определения оптимальной отрезной точки для проведения ССК был проведён ROC-анализ. Для АГАЛ отрезной точкой является значение 0,145 нМ/пятно*45 ч, а для АГАЛ А — 0,055 нМ/пятно*45 ч. При этом сумма значений чувствительности и специфичности является максимальной (табл. 3, 4).

Селективный скрининг на БФ

Среди общего числа пациентов 90,9% (556 чел., из них 527 мужчин (94,1% от общего числа мужчин), 29 женщин (55,8% от общего количества женщин)) имели хотя бы 1 основной критерий, 7,5% (46 чел., 33 (5,9%) мужчин, 13 (25%) женщин) не имели основного критерия, но имели 2 и более дополнительных критерия; 1,6% от общего количества пациентов — 10 женщин (19,2% от общего количества женщин) имели только 1 из дополнительных критериев (acroparasthesia/ангиокератомы).

После проведения лабораторного тестирования выявлено снижение активности общей А-ГАЛ у 32 чел. (29 мужчин и 3 женщины). Изолированное снижение активности А-ГАЛ А наблюдалось у одного пациента. Таким образом, была сформирована группа из 33 пациентов (30 мужчин, 3 женщины), которым был проведён

анализ гена *GLA* и определение активности фермента в лейкоцитах периферической крови. У трёх пациентов при молекулярно-генетическом анализе были выявлены мутации в гене *GLA* и снижение активности АГАЛ А

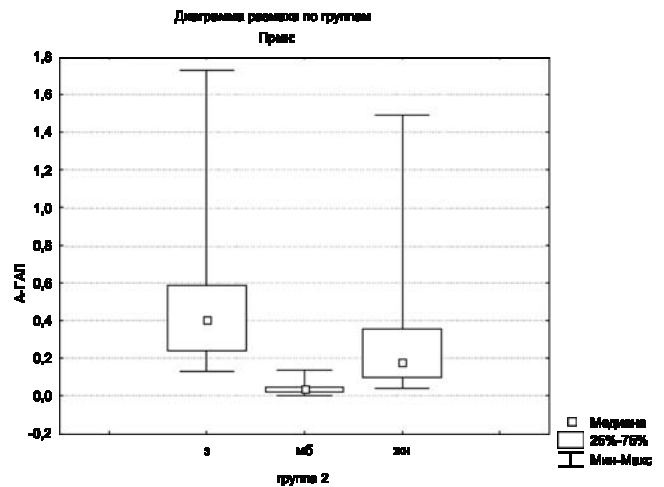


Рис. 1. Активность А-ГАЛ в пятнах высушенной крови в группе контроля, у пациентов мужского пола, страдающих БФ, и гетерозиготных носительниц БФ: З — здоровые, группа контроля, мб — мужчины, больные, жн — женщины, носительницы.

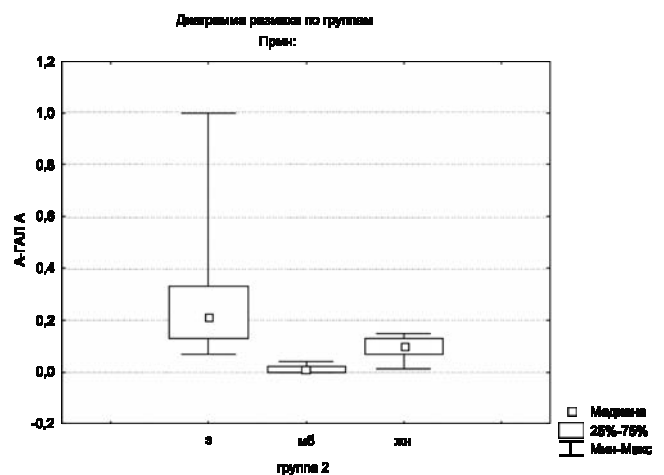


Рис. 2. Активность А-ГАЛ А в пятнах высушенной крови в группе контроля, у пациентов мужского пола, страдающих БФ, и гетерозиготных носительниц БФ: З — здоровые, группа контроля, мб — мужчины, больные, жн — женщины, носительницы.

Таблица 3

Фрагмент точек «Чувствительность (Se) — Специфичность (Sp)» при ROC-анализе активности А-ГАЛ

Пороговое значение активности А-ГАЛ, нМ/пята*45 ч	Se, %	Sp, %	Se + Sp
0,1050	98,1	92,0	190,1
0,1200	98,1	96,0	194,1
0,1350	96,7	96,0	192,7
0,1450	95,3	100,0	195,3
0,1550	93,0	100,0	193,0
0,1650	91,6	100,0	191,6

Таблица 4

Фрагмент точек «Чувствительность — Специфичность» при ROC-анализе активности А-ГАЛ А

Пороговое значение активности А-ГАЛ А, нМ/пята*45 ч	Se, %	Sp, %	Se + Sp
0,0150	99,5	60,0	159,5
0,0250	99,5	85,0	184,5
0,0350	99,1	90,0	189,1
0,0550	99,1	100,0	199,1
0,0750	96,7	100,0	196,7
0,0850	93,0	100,0	193,0
0,0950	89,2	100,0	189,2

Таблица 5

Результаты селективного скрининга на БФ

Всего пятен	612
Пятен пригодных для анализа	585
Положительный ретест	33
Диагноз БФ подтверждён	3
Диагноз БФ исключён	30

в лейкоцитах, на основании этих обследований диагноз БФ был подтверждён. У 30 больных диагноз БФ исключён на основании дополнительных биохимических и молекулярно-генетических тестов. Результаты скринингового исследования на БФ приведены в табл. 5.

В результате ССК диагноз БФ был установлен у 2 мужчин и одной женщины. Пациенты мужского по-

ла проходили лечение в отделении нефрологии и находились на гемодиализе по поводу терминальной ХПН, а у женщины клиническими проявлениями болезни были только акропарестезии и единичные ангиокератомы (табл. 6). Пациентка наблюдалась в отделении неврологии.

Учитывая наследственный характер заболевания, было проведено обследование родственников пациентов с БФ. При обследовании родственников больной Ж. БФ подтверждена ещё 3 пациентам мужского пола — П., 1969 г.р., родному брату Фр., 1986 г.р., и сыну Ж1, 2009 г.р. (2.9, 3.1, 4.1 на рис. 3).

Также совершенно очевидно, что хроническая болезнь почек, которая стала причиной смерти двух родственников пациентки Ж., являлась проявлением БФ в данной семье. Обследование родственников пациента и анализ родословной является высокоэффективным подходом для выявления случаев заболевания. Например, при ССК в Чехии было обследовано 3370 чел. Диагноз БФ подтвердили у четырёх мужчин и одной женщины. В дальнейшем при молекулярно-генетическом обследовании членов семей пробандов, было выявлено

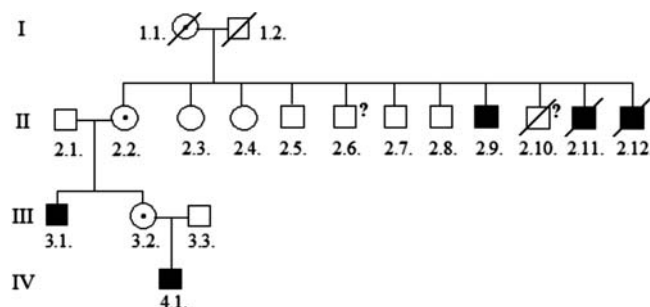


Рис. 3. Родословная пациентки Ж.:

2.2 — Ж., пациентка с БФ, выявленная по скринингу; 2.6 — страдает психическим заболеванием; 2.9 — П.; 2.10 — умер в 27 лет; 2.11, 2.12 — умерли в 40 лет от заболевания почек (ХПН?); 3.1 — Фр.; 4.1 — Ж1.

Таблица 6

**Результаты биохимической диагностики БФ в пятнах высушенной крови
и молекулярно-генетической диагностики БФ у выявленных пациентов группы скрининга**

Пациент, возраст	Пол	А-ГАЛ нМ/пятно*45 ч (норма 0,13–1,73)	А-ГАЛ А нМ/пятно*45 ч (норма 00,08–0,75)	Мутации в гене GLA
З., 40 лет	Мужской	0,03	0,00	с. 996_999delACAG
Д., 19 лет	Мужской	0,04	0,01	p.Gly43Val
Ж., 25 лет	Женский	0,12	0,07	p.Glu341Lys

ещё 10 случаев БФ [16]. В большинстве случаев пациентам, имеющим терминальную стадию хронической почечной недостаточности, проведение ФЗТ не показано, но возможность выявления новых пациентов при последующем семейном анализе дополнительно повышает эффективность ССК. В нашем случае сыну пациентки Ж. диагноз БФ установлен на доклинической стадии, что позволяет осуществлять клинический контроль и проводить мероприятия для профилактики основных осложнений болезни. Применение ФЗТ в данном случае следует начинать только при появлении основных симптомов заболевания. Интересным является тот факт, что при ССК, в основе которого лежит биохимическая диагностика БФ, в нашем исследовании была выявлена женщина — гетерозиготная носительница БФ. Хотя биохимический метод диагностики БФ у женщин-носи-

тельниц не является надежным, выявление гетерозигот по БФ при скрининге наблюдалось и у других исследователей [16, 17].

На основании полученных биохимических и молекулярных данных был разработан алгоритм диагностики БФ (рис. 4). Биохимическая диагностика БФ у мужчин является подтверждающей, у женщин требуется проведение ДНК — диагностики при любом значении фермента.

Опыт разных центров в странах Европы показывает различную эффективность таких скрининговых программ, в результате которых выявляют БФ у 0,4–12% пациентов. Наиболее эффективным считается проведение скрининга на БФ среди пациентов отделения гемодиализа [11]. Среди больных с гипертрофией левого желудочка (ГЛЖ) по результатам скрининговых исследо-



Рис. 4. Алгоритм лабораторной диагностики БФ

ваний выявляют 0—12% пациентов с БФ [6, 17]. Интересные результаты были получены при ССК на БФ среди пациентов, имеющих в анамнезе цереброваскулярные заболевания (острые нарушения мозгового кровообращения (ОНМК), транзиторные ишемические атаки (ТИА), внутричерепные кровоизлияния, долихоэктазии позвоночной и базилярной артерий). Было обследовано 1000 пациентов и выявлено 8 неродственных женщин, которые являлись гетерозиготными носительницами БФ. Это исследование подтверждает наличие атипичной цереброваскулярной формы БФ с поздней манифестацией [3]. Высокий процент пациентов с БФ, выявленный при ССК указывает на то, что частота БФ, возможно, гораздо выше, чем считалось ранее. Подтверждением тому может быть массовый скрининг на БФ, проведённый в Италии, Венгрии, Тайване [7—9]. По результатам скрининга БФ, проведённого в Италии, частота заболевания составила 1:3100 новорождённых мальчиков, что в 15—20 раз выше общепринятой частоты БФ в популяциях. Конечно, результаты данного исследования требуют дополнительного анализа и уточнения, но очевидно, что частота атипичных форм заболевания остаётся недооценённой.

Список литературы

1. Бююль А., Цефель П. SPSS: искусство обработки информации: анализ стат. данных и восстановление скрытых закономерностей. Версия 10 / Под ред. В.Е. Момота. — М.: DiaSoft, 2001. — С. 601.
2. Краснопольская К.Д. Наследственные болезни обмена веществ: Справочное пособие для врачей. — М.: ЦСАРД «Фохат», 2005. — С. 364.
3. Brouns R., Thijs V., Eyskens F. Belgian Fabry study: prevalence of Fabry disease in a cohort of 1000 young patients with cerebrovascular disease // *Stroke*. — 2010. — Vol. 41, №5. — P. 863—868.
4. Caudron E., Moliere D., Zhou J.Y. et al. Recent advances of Fabry disease screening for at risk population // *Med. Sci. (Paris)*. — 2005. — Vol. 21. — Suppl. 11. — P. 48—50.
5. Chamoles N.A., Blanco M., Gaggioli D. Fabry disease: enzymatic diagnosis in dried blood spots on filter paper // *Clin. Chim. Acta*. — 2001. — Vol. 308, №1—2. — P. 195—196.
6. Hagege A.A., Caudron E., Damy T. et al. Screening patients with hypertrophic cardiomyopathy for Fabry disease using a filter-paper test: the FOCUS study // *Heart*. — 2011. — Vol. 97. — P. 131—136.
7. Hwu W.-L., Chien Y.-H., Lee N.-C. et al. Newborn Screening for Fabry Disease in Taiwan Reveals a High Incidence of the Later-Onset Mutation c.936+919G>A (IVS4+919G>A) // *Hum. Mutat.* — 2009. — Vol. 30, №10. — P. 1397—1405.
8. Ishii S., Nakao S., Minamikawa-Tachino R. et al. Alternative Splicing in the α -Galactosidase A Gene: Increased Exon Inclusion Results in the Fabry Cardiac Phenotype // *Am. J. Hum. Genet.* — 2002. — Vol. 70, №4. — P. 994—1002.
9. Judit W., Eszter Karg E., Sandor Turi S. et al. Newborn screening for lysosomal storage disorders in Hungary // *JIMD Rep.* — 2012. — Vol. 21, №6. — P. 117—125.
10. Li Y., Scott C.R., Chamoles N.A. et al. Direct Multiplex Assay of Lysosomal Enzymes in Dried Blood Spots for Newborn Screening // *Clinical Chemistry*. — 2004. — Vol. 50, №10. — P. 1785—1796.
11. Linthorst G.E., Hollak C.E., Korevaar J.C. et al. Alpha-Galactosidase A deficiency in Dutch patients on dialysis: a critical appraisal of screening for Fabry disease // *Nephrol. Dial. Transplant.* — 2003. — Vol. 18, №8. — P. 1581—1584.
12. Lukacs Z., Keil A., Peters V. et al. Towards quality assurance in the determination of lysosomal enzymes: a two-centre study // *J. Inher. Metab. Dis.* — 2003. — Vol. 26. — P. 571—581.
13. Lukacs Z., Hartung R., Beck M. et al. Direct comparison of enzyme measurements from dried blood and leukocytes from male and female Fabry disease patients // *J. Inher. Metab. Dis.* — 2007. — Vol. 30. — P. 614.
14. Lv Y.L., Wang W.M., Pan X.X. et al. A successful screening for Fabry disease in a Chinese dialysis patient population // *Clin. Genet.* — 2009. — Vol. 76. — P. 219—221.
15. Meikle P.J., Hopwood J.J., Clague A.E. et al. Prevalence of lysosomal storage disorders // *JAMA*. — 1999. — Vol. 281. — P. 249—254.
16. Merta M., Reiterova J., Ledvinova J. et al. A nationwide blood spot screening study for Fabry disease in the Czech Republic haemodialysis patient population // *Nephrol. Dial. Transplant.* — 2007. — Vol. 22. — P. 179—186.
17. Terryn W., Deschoenmakere G., De Keyser J. et al. Prevalence of Fabry disease in a predominantly hypertensive population with left ventricular hypertrophy // *Int. J. Cardiol.* — 2012. — 15 Jul.
18. Thomas A.S., Mehta A.B. Difficulties and barriers in diagnosing Fabry disease: what can be learnt from the literature? // *Expert Opin. Med. Diagn.* — 2013. — Vol. 7, №6. — P. 589—599.
19. Wang R.Y., Lelis A., Mirocha J. et al. Heterozygous Fabry women are not just carriers, but have a significant burden of disease and impaired quality of life // *Genet. Med.* — 2007. — Vol. 9. — P. 34—45.

Selective screening for Fabry disease

Golivets L.T., Kruglova O.V., Gusarova E.A., Tsigankova P.V., Zakharova E.Yu.

In order to improve the diagnosis of Fabry disease in Russia a selective screening for Fabry disease was performed among patients at high clinical risk. Biochemical diagnosis of Fabry disease, — measuring the activity of alpha-galactosidase, alpha-galactosidase A, — was conducted in dried blood spots. For the purpose of improving and optimizing this method in the laboratory of the inherited metabolic diseases, the enzyme activity was measured in dried blood spots of 25 male patients with an established diagnosis of Fabry disease, 14 female heterozygous carriers of the disease, and 200 healthy controls. The test sensitivity and specificity and the optimum cutoff for alpha-galactosidase, alpha-galactosidase A activity were established. 612 patients were sent to the screening from nephrology units, including hemodialysis, neurological and cardiological departments. Fabry disease was revealed in three patients — two men and one woman. An algorithm of diagnosis of Fabry disease was developed.

Key words: Fabry disease (FD), selective screening, α -galactosidase A (AGAL A), *GLA* gene, dried blood spots

Частота мутаций в гене *KRAS* в различных клинических группах пациентов Юга России с колоректальным раком

Кит О.И., Водолажский Д.И., Двадненко К.В.,
Гудуева Е.Н., Кутилин Д.С., Геворкян Ю.А., Владимиров Л.Ю.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт»
Министерства Здравоохранения Российской Федерации, 344037, Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63; e-mail: dvodolazhsky@gmail.com

В группе пациентов (N = 401) Юга России с диагнозом «колоректальный рак» (КРР) проведен анализ встречаемости мутаций в гене *KRAS* в различных клинических группах пациентов методом Real-Time qPCR. Вошедшие в исследование пациенты были разделены на группы по полу, возрасту, локализации первичной опухоли, степени дифференцировки опухолевых клеток, наличию метастазов в лимфоузлы, печень и другие органы, стадии заболевания. Анализировали частоты семи миссенс-мутаций в 12 и 13 кодонах гена *KRAS*. Выявлены статистически значимые ассоциации проявления мутантного типа гена *KRAS* с клинико-морфологическими особенностями пациентов. Проведено сравнение частоты и спектра мутаций в гене *KRAS* с данными зарубежных и отечественных авторов.

Ключевые слова: колоректальный рак, мутации, *KRAS*, Юг России, метастазы, Real-Time qPCR

Введение

В общей структуре онкологической заболеваемости КРР занимает третье место в мире среди мужчин и второе среди женщин. По данным мировой статистики, в 2012 г. зарегистрировано более чем 1,4 млн новых случаев КРР. Для КРР характерны большие популяционные колебания показателей заболеваемости и смертности, на которые существенное влияние оказывают также возраст, особенности питания и уровень экономического развития страны проживания. [11]. Например, повышение уровня жизни и изменение пищевого рациона населения привело к резкому росту заболеваемости КРР в Китае и других странах Азии за последние годы [8].

В российской популяции КРР встречается с частотой 34,9 случая на 100 000 населения [11]. Среди больных с I–II стадией этого заболевания рак ободочной кишки составляет 42%, а прямой кишки, ректосигмоидного соединения и ануса — 47,6% от всех впервые диагностированных случаев КРР. Обнаружение опухоли на ранних стадиях создаёт хорошие предпосылки для эффективного использования как традиционных хирургических методов, так и химио- и/или таргетной терапии.

Положительный клинический ответ на проведение таргетной терапии в популяции пациентов с невыясненным статусом *KRAS*, как правило, составляет всего 10–20%, и в большинстве случаев является кратковременным (обычно 6–12 мес.) и малоэффективным [10]. Именно поэтому, индивидуальное определение соматических мутаций в гене *KRAS* необходимо для эффективного использования таргетной терапии КРР в рутинной клинической практике.

Таргетные онкологические препараты относятся к классу лекарств, которые подавляют рост и распространение опухоли, блокируя работу специфических моле-

кул, критически важных для опухолевой прогрессии. В отличие от традиционной химиотерапии, которая обладает цитотоксическим воздействием на все быстро делящиеся клетки, нарушая базовые клеточные события, такие, как репликация ДНК и сборка микротрубочек в митозе, таргетная терапия фокусируется на молекулярных нарушениях, характерных только для раковых клеток. Таким образом, таргетные препараты, оказывая аналогичный или даже более выраженный эффект по сравнению с химио- и лучевой терапией, обладают гораздо менее выраженным побочным токсическим действием.

У человека идентифицированы три различных гена подсемейства *RAS*: *KRAS* (гомолог онкогена вируса саркомы Кирстен крыс), *HRAS* (гомолог онкогена вируса саркомы Харви крыс) и *NRAS* (гомолог онкогена вируса нейробластомы), обладающих высокой степенью гомологии, но различной функциональной активностью. Белки *RAS* — это небольшие GTP-азы, которые переключаются между неактивной гуанозин дифосфат (ГДФ) -связанной формой и активной гуанозинтрифосфат (ГТФ) -связанной формой. Белки *RAS* являются центральными посредниками в передаче сигналов «вниз по течению» в направлении от рецепторов эпидермального фактора роста (Epidermal Growth Factor Receptor — **EGFR**) и, следовательно, имеют решающее значение для пролиферации, выживания и дифференцировки клеток. *RAS*-белки могут активировать несколько нижестоящих эффекторов, в том числе сигнальные пути PI3K-AKT-MTOR и RAS-RAF-MEK-ERK, регулирующие выживаемость и пролиферацию клеток. Мутации в гене *KRAS* встречаются в 25–30% всех видов опухолей [13]. Поэтому, фармакологический контроль активности *RAS*, является одним из важных методов терапии некоторых типов рака [8].

У пациентов с диагнозом *колоректальный рак* соматические мутации в гене *KRAS* встречаются в 30–60% случаев [1,15]. Большинство мутаций локализуется в кодонах 12, 13 и 59 и 61 гена *KRAS*. Результатом этих мутаций является конститутивная активация сигнального пути *KRAS* вне зависимости от функционального состояния *EGFR*. Поэтому, пациенты с опухолями, имеющими мутации в гене *KRAS*, не получают ожидаемый терапевтический эффект при назначении анти-EGFR препаратов, как в виде монотерапии, так и в комбинации с химиотерапией [4]. В тех случаях, когда пациентам с мутантным типом *KRAS* в опухоли, назначали анти-EGFR терапию в сочетании с химиотерапией оксалиплатином, эффект от лечения был гораздо хуже, чем даже у пациентов, получавших только оксалиплатин. [5]. Поэтому, в настоящее время, определение статуса соматических мутаций гена *KRAS* в клетках опухоли является необходимым условием при планировании персонализированной терапии КРР.

Целью исследования было изучение распределения миссенс-мутаций в гене *KRAS* между различными клиническими группами пациентов Юга России с диагнозом КРР, получавших стационарное лечение в ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Пациенты и методы

В исследовании участвовали 401 пациент (178 мужчин, 223 женщины) в возрасте от 28 до 89 лет с морфологически подтверждённым диагнозом *аденокарцинома толстой кишки*. Из фиксированных в 10%-ном забуференном формалине и залитых в парафин опухолевых тканей получали срезы толщиной 3 мкм. Для последующего молекулярно-генетического исследования использовали срезы, содержащие не менее 20% опухолевых клеток. Экстракция ДНК включала стандартную процедуру депарафинирования в орто-ксилоле, лизис в 2% SDS-буфере в присутствии протеиназы К в течение 12 ч при 58°C с последующей инкубацией при температуре 90°C в течение 1 ч [2]. Дальнейшие этапы экстракции ДНК проводили на колонках с использованием набора реагентов QIAamp® DNA FFPE Tissue Kit (QIAGEN, Germany) согласно протоколу производителя. Концентрацию выделенных из ткани опухолей препаратов ДНК

измеряли на флуориметре Qubit 2.0® с использованием набора Quant-iT™ dsDNA High-Sensitivity (HS) Assay Kit (Invitrogen, USA). Для проведения Real-Time PCR концентрацию ДНК нормализовывали до величины 2 нг/мкл. При помощи набора реагентов «Real-Time-PCR-KRAS-7М» («Биолинк», Россия) проводили определение семи миссенс-мутаций в кодонах 12 и 13 гена *KRAS*: G12C, G12S, G12R, G12V, G12D, G12A, G13D с использованием термочиклера Bio-Rad CFX96 (Bio-Rad, USA).

Статистический анализ выполняли с использованием прикладных пакетов программ Microsoft Excel 2013 и Statistica 8.0. Определяли статус наличия/отсутствия мутаций в гене *KRAS* в группах пациентов, сформированных в соответствии с клиническими признаками: пол, возраст, локализация первичной опухоли, степень дифференцировки опухолевых клеток, наличие метастазов в лимфоузлы, печень, другие органы, стадия заболевания. Статистическую оценку достоверности выявленных различий проводили с использованием критерия χ^2 .

Результаты и обсуждение

По результатам проведённого нами исследования пациентов Юга России (N = 401) с диагнозом КРР I–IV стадии (табл. 1), соматические мутации в кодонах 12 и 13 гена *KRAS* встречаются в 35,4% случаев (табл. 2). Этот показатель приближает популяцию Юга России к европейской, что, вероятно, отражает их общую принадлежность к кавказоидной расе и сопоставимый образ жизни [17].

Данные о большей распространённости КРР среди женщин и зависимости статуса гена *KRAS* от пола приводятся во многих работах [3, 12, 16]. Согласно результатам, наших исследований, частота мутаций *KRAS* у женщин моложе 60 лет выше, чем у мужчин в такой же возрастной группе на 12%. Однако различия (при $p = 0,0615$) между этими группами пациентов с КРР не являются статистически значимыми и в данном случае можно говорить только о тенденции (табл. 2).

Было проанализировано распределение дикого (Wild Type) WT и мутантного типов (Mutant Type) MT гена *KRAS* у вошедших в исследование пациентов различных возрастных групп (табл. 3). В исследованной нами объединённой выборке пациентов мужского и женского полов Юга России статистически значимые различия вы-

Таблица 1

Характеристика участвовавших в исследовании пациентов по классификации TNM

Стадия рака (401 чел.)	Число пациентов
I (T1-2N0M0)	12 (2,9%)
II (T3-4N0M0)	69 (17,2%)
III (ТлюбаяN1-2M0)	65 (16,2%)
IV (ТлюбаяNлюбаяM1)	255 (63,6%)
Всего	401

явлены только между группами от 45 до 55 и старше 65 лет с высоким уровнем достоверности ($p = 0,0116$).

Частота наблюдаемых мутаций в гене *KRAS* опухолей III стадии KPP была достоверно ниже, чем при IV стадии ($p = 0,0162$). Однако при сравнении между собой других стадий KPP статистически значимых различий не выявлено (табл. 4).

Такие характеристики, как локализация первичной опухоли в проксимальных или дистальных отделах толстой кишки, степень дифференцировки опухолевых клеток, наличие или отсутствие метастазов в печень, лимфо-

узлы, а также другие органы не оказала значимого влияния на встречаемость МТ гена *KRAS* в исследованных клинических группах пациентов Юга России (табл. 2).

Практика проведения рутинных исследований для назначения таргетной терапии KPP требует определения статуса гена *KRAS* в исследуемых популяциях или клинических группах больных KPP. Сравнительный анализ частоты встречаемости мутаций в гене *KRAS* в нашем исследовании и данных, полученных в РОНЦ им. Блохина, а также европейскими исследователями из Нидерландов и Франции представлен в табл. 5. Как следует из данных, представлен-

Таблица 2

Статус гена *KRAS* в различных клинических группах пациентов с KPP

Характеристика	Кол-во пациен- тов, n = 401 (100%)	Статус гена <i>KRAS</i>		Значение критерия χ^2	Значение p, статистическая значимость
		Дикий тип, n = 259 (64,5%)	Мутантный тип, n = 142 (35,4%)		
Пол					
Мужчины >60 лет	96 (23,9%)	58(60,4%)	38 (39,5%)	0,01	0,9283 Не значимо
Женщины >60 лет	95 (23,6%)	58 (61,05%)	37 (38,9%)		
Мужчины ≤60 лет	82 (20,4%)	62 (75,6%)	20 (24,3%)	3,5	0,0615 Не значимо
Женщины ≤60 лет	128 (31,9%)	81 (63,2%)	47 (36,7%)		
Мужчины >55 лет	131 (32,6%)	86 (65,6%)	45 (34,3%)	1,55	0,2124 Не значимо
Женщины >55 лет	139 (34,6%)	81 (58,2%)	58 (41,7%)		
Мужчины ≤55 лет	47 (11,7%)	34 (72,3%)	13 (27,6%)	0,16	0,6926 Не значимо
Женщины ≤55 лет	84 (20,9%)	58 (69,04%)	26 (30,9%)		
Возраст					
≤60 лет	210 (52,3%)	143 (68,09%)	67 (31,9%)	2,37	0,1237 Не значимо
>60 лет	191 (47,6%)	116 (60,7%)	75 (39,2%)		
≤55 лет	131(32,6%)	92 (70,2%)	39 (29,7%)	2,71	0,1 Не значимо
>55 лет	270 (67,3%)	167 (61,8%)	103 (38,1%)		
Локализация первичной опухоли					
Проксимальные отделы ТК	82 (20,4%)	57 (69,5%)	25 (30,4%)	1,09	0,2959 Не значимо
Дистальные отделы ТК, в том числе прямая кишка	319 (79,5%)	202 (63,3%)	117 (36,6%)		
Дифференцировка					
G1 + G2	363 (90,5%)	233 (64,1%)	130 (35,8%)	0,27	0,6036 Не значимо
G3	38 (9,4%)	26 (68,4%)	12 (31,5%)		
Метастазы в печень					
Есть	185 (46,1%)	114 (61,6%)	71 (38,3%)	1,32	0,2503 Не значимо
Нет	216 (53,8%)	145 (67,1%)	71 (32,8%)		
Метастазы в регионарные лимфоузлы					
Есть	65 (16,2%)	43 (66,1%)	22 (33,9%)	1,82	0,1770 Не значимо
Нет	336 (83,8%)	192 (57,1%)	144 (42,9%)		
Метастазы в другие органы					
Есть	70 (17,5%)	45 (64,3%)	25 (35,7%)	0,25	0,6183 Не значимо
Нет	331 (82,5%)	223 (67,4%)	108 (32,6%)		
Стадии					
I (T1-2N0M0) + II (T3-4N0M0)	81 (20,1%)	52 (64,1%)	29 (35,8%)	0,08	0,7776 Не значимо
III (ТлюбаяN1-2M0) + IV (ТлюбаяNлюбаяM1)	320 (79,8%)	200 (62,5%)	120 (37,5%)		

ной в этой таблице, по показателям частот встречаемости мутантного типа гена *KRAS* популяция пациентов Юга России практически не отличается от аналогичных групп пациентов из Нидерландов и другой российской выборки (РОНЦ им. Блохина). Во всех этих популяциях частота

встречаемости мутантного типа гена *KRAS* находилась в диапазоне 35—37%. В группе пациентов из Франции данный показатель составлял почти 42%, что с высоким уровнем достоверности ($p = 0,0007$) отличалось от аналогичного показателя для пациентов Юга России.

Таблица 3

Статус гена *KRAS* в различных возрастных группах пациентов

Характеристика	Общее число пациентов	Дикий тип	Мутантный тип	Значение критерия χ^2	Значение p , статистическая значимость $p < 0,05$
До 45 лет	40	25 (62,5%)	15 (37,5%)	2,09	0,1482
45—54 года	88	66 (75%)	22 (25%)		Не значимо
45—54 года	88	66 (75%)	22 (25%)	3,16	0,0753
55—64 года	164	105 (64,02%)	59 (39,5%)		Не значимо
55—64 года	164	105 (64,02%)	59 (39,5%)	1,07	0,3004
После 65 лет	109	63 (57,7%)	46 (42,2%)		Не значимо
До 45 лет	40	25 (62,5%)	15 (37,5%)	0,22	0,6379
55—64 года	164	105 (64,02%)	59 (39,5%)		Не значимо
45—54 года	88	66 (75%)	22 (25%)	6,37	0,0116
После 65 лет	109	63 (57,7%)	46 (42,2%)		Значимо
До 45 лет	40	25 (62,5%)	15 (37,5%)	0,27	0,6050
После 65 лет	109	63 (57,7%)	46 (42,2%)		Не значимо

Таблица 4

Сравнительная характеристика статуса *KRAS* при различных стадиях КРР

Стадия рака (401 чел.)	Число пациентов	Дикий тип	Мутантный тип	Значение критерия χ^2	Значение p , статистическая значимость $p < 0,05$
I (T1-2N0M0)	12	8 (66,6%)	4 (33,3%)	0,04	0,8467
II (T3-4N0M0)	69	44 (63,7%)	25 (36,2%)		Не значимо
III (ТлюбаяN1-2M0)	65	49 (75,3%)	16 (24,6%)	5,78	0,0162
IV (ТлюбаяNлюбаяM1)	255	151 (59,2%)	104 (40,7%)		Значимо
I (T1-2N0M0)	12	8 (66,6%)	4 (33,3%)	0,40	0,5269
III (ТлюбаяN1-2M0)	65	49 (75,3%)	16 (24,6%)		Не значимо
I (T1-2N0M0)	12	8 (66,6%)	4 (33,3%)	0,26	0,6073
IV (ТлюбаяNлюбаяM1)	255	151 (59,2%)	104 (40,7%)		Не значимо
II (T3-4N0M0)	69	44 (63,7%)	25 (36,2%)	2,13	0,1447
III (ТлюбаяN1-2M0)	65	49 (75,3%)	16 (24,6%)		Не значимо
II (T3-4N0M0)	69	44 (63,7%)	25 (36,2%)	0,47	0,4931
IV (ТлюбаяNлюбаяM1)	255	151 (59,2%)	104 (40,7%)		Не значимо

Таблица 5

Сравнение частоты мутаций *KRAS* в различных популяциях

Страна	N	Дикий тип	Мутантный тип	Значение критерия χ^2	Значение p , статистическая значимость
Нидерланды	737	466 (63%)	271 (37%)	0,21	0,6487
Юг России	401	259 (64,5%)	142 (35,4%)		Не значимо
Франция	992	542 (58,2%)	450 (41,8%)	11,57	0,0007
Юг России	401	259 (64,5%)	142 (35,4%)		Значимо
Россия (РОНЦ им. Блохина)	573	365 (63,7%)	208 (36,3%)	0,08	0,7760
Юг России	401	259 (64,5%)	142 (35,4%)		Не значимо

Таблица 6

Спектр мутаций *KRAS* в различных популяциях

Страна	Мутация (n, %)	Остальные мутации (n, %)	Значение критерия χ^2	Значение p, статистическая значимость
1	2	3	4	5
G12D				
Нидерланды	89 (32,8%)	182 (67,1%)	0,83	0,3623 Не значимо
Юг России	53 (37,3%)	89 (62,7%)		
Франция	165 (36,6%)	285 (63,3%)	0,02	0,8874 Не значимо
Юг России	53 (37,3%)	89 (62,7%)		
Россия	72 (34,6%)	136 (65,3%)	0,27	0,6036 Не значимо
Юг России	53 (37,3%)	89 (62,7%)		
G12V				
Нидерланды	56 (20,6%)	215 (79,3%)	1,63	0,2022 Не значимо
Юг России	22 (15,4%)	120 (84,6%)		
Франция	91 (20,2%)	359 (79,8)	1,56	0,2112 Не значимо
Юг России	22 (15,4%)	120 (84,6%)		
Россия	68 (32,7%)	140 (67,3%)	13,07	0,0003 Значимо
Юг России	22 (15,4%)	120 (84,6%)		
G12C				
Нидерланды	17 (6,4%)	254 (93,6%)	0,09	0,7639 Не значимо
Юг России	9 (7,04%)	133 (92,9%)		
Франция	39 (8,7%)	411 (91,5%)	0,38	0,5402 Не значимо
Юг России	9 (7,04%)	133 (92,9%)		
Россия	7 (3,4%)	201 (96,6%)	2,47	0,1161 Не значимо
Юг России	7 (7,04%)	135 (92,9%)		
G12A				
Нидерланды	16 (6,1%)	255 (93,9%)	4,67	0,0308 Значимо
Юг России	17 (11,9%)	125 (88,1%)		
Франция	26 (5,7%)	424 (94,3%)	6,15	0,0132 Значимо
Юг России	17 (11,9%)	125 (88,1%)		
Россия	18 (8,7%)	190 (91,3%)	1,03	0,3096 Не значимо
Юг России	17 (11,9%)	125 (88,1%)		
G12R				
Нидерланды	7 (2,7%)	264 (97,3%)	0,82	0,3639 Не значимо
Юг России	6 (4,2%)	136 (95,8%)		
Франция	11(2,4%)	439 (97,7%)	1,23	0,2679 Не значимо
Юг России	6 (4,2%)	136 (95,8%)		
Россия	2 (0,9%)	206 (99,1%)	4,02	0,0448 Значимо
Юг России	6 (4,2%)	136 (95,8%)		
G12S				
Нидерланды	21 (7,7%)	250 (92,2%)	0,64	0,4242 Не значимо
Юг России	8 (5,6%)	134 (94,4%)		
Франция	19 (4,9%)	431 (95,1%)	0,49	0,4821 Не значимо
Юг России	8 (5,6%)	134 (94,4%)		
Россия	15 (7,2%)	193 (92,8%)	0,34	0,5586 Не значимо
Юг России	8 (5,6%)	134 (94,4%)		
G13D				
Нидерланды	65 (23,9%)	206 (76,01%)	1,33	0,2488 Не значимо
Юг России	27 (19,01%)	115 (80,99%)		

Таблица 6 (окончание)

1	2	3	4	5
Франция	99 (22%)	351 (79,2%)	0,51	0,4485 Не значимо
Юг России	27 (19,01%)	115 (80,99%)		
Россия	26 (12,5%)	182 (87,5%)	2,79	0,0951 Не значимо
Юг России	27 (19,01%)	115 (80,99%)		

Существуют репрезентативные исследования, в которых приводятся данные о влиянии миссенс-мутаций в гене *KRAS* на выбор тактики и стратегии дальнейшей таргетной и/или химиотерапии [9]. Именно поэтому, в рамках настоящего исследования был проанализирована доля различных типов миссенс-мутаций в гене *KRAS* у исследованной группы пациентов Юга России (табл. 6). Как показали результаты нашего исследования, наиболее представительными или «мажорными» среди всех изученных типов миссенс-мутаций в гене *KRAS* были следующие: G12D (37,3%), G13D (19,1%), G12V (15,4%), а также G12A (11,9%). В общей сложности, эти 4 разновидности мутаций составляют 83,7% от всех проанализированных нами миссенс-мутаций в аденокарциномах толстой кишки. Следовательно, на долю оставшихся 3 типов мутаций в гене *KRAS* приходится чуть более 16% — приблизительно от 4 до 7% на каждый локус (табл. 6).

Полученные нами данные и результаты исследований европейских популяций в Нидерландах [7] и Франции [14] а также аналогичного исследования, проведённого в России [1], достоверно различаются по встречаемости миссенс-мутаций G12V, G12A и G12R в гене *KRAS*. Так, в нашем исследовании мутация G12V встречается в 15,4%, а по данным других отечественных исследователей (РОНЦ им. Блохина) в 32,7% случаев ($p = 0,0003$).

Среди пациентов Юга России с KPP мутации G12A по частоте встречаемости почти в 2 раза превышают аналогичные показатели данных из Нидерландов ($p = 0,0308$) и Франции ($p = 0,0132$). Частота встречаемости мутации G12R в популяции Юга России более чем в 4 раза превышает аналогичный показатель, полученный в РОНЦ им. Блохина ($p = 0,0448$). Встречаемость остальных типов миссенс-мутаций в популяции Юга России достоверно не отличается от аналогичных показателей других проанализированных популяций.

Заключение

В ряде исследований, посвящённых анализу связи между мутантным или диким статусом гена *KRAS* и такими клинико-патологическими особенностями, как возраст, пол, локализация опухоли, глубина инвазии, наличие регионарных, или отдалённых метастазов, степень злокачественности, инвазия в сосудистое русло и размер опухоли не обнаружено статистически значимых отличий [9]. В проведённом нами исследовании среди

пациентов Юга России с KPP различия встречаемости WT и MT типов гена *KRAS* обнаружены в следующих клинических группах:

1. Мутации в гене *KRAS* встречаются практически в 2 раза чаще ($p = 0,0162$) при IV стадии развития KPP по сравнению с III стадией. Сравнение между собой других стадий заболевания не выявило статистически значимых различий;

2. У женщин в возрасте младше 60 лет, мутации в гене *KRAS* имеют тенденцию встречаться чаще, чем у мужчин аналогичной возрастной группы на 12% ($p = 0,0615$, значение близко к достоверным);

3. В возрастной группе пациентов 45–55 лет мутации в гене *KRAS* встречаются почти в 1,5 раза реже ($p = 0,0116$), чем в возрастной группе старше 60 лет;

4. Общий показатель встречаемости мутаций в гене *KRAS* у пациентов Юга России сопоставим с результатами, полученными при проведении аналогичных исследований в Нидерландах и других регионах России, однако, достоверно ниже, чем в популяции пациентов Франции ($p = 0,0007$);

5. Доля мутаций G12R в популяции Юга России не отличается от данных европейских популяций, но достоверно выше ($p = 0,0448$) результатов, полученных в РОНЦ имени Блохина более чем в 4 раза. Мутация G12A в популяции пациентов Юга России встречается статистически достоверно реже, чем в Нидерландах ($p = 0,0308$) и Франции ($p = 0,0132$), а мутация G12V встречается почти в 2 раза реже, чем в других популяциях России по данным отечественных авторов ($p = 0,0003$).

Список литературы

1. Водолажский Д.И., Антонец А.В., Двадненко К.В., Владимирова Л.Ю., Геворкян Ю.А., Касаткин В.Ф., Максимов А.Ю. Связь мутаций гена *KRAS* с клинико-патологическими особенностями колоректального рака у пациентов Юга России // Международный журнал экспериментального образования. — 2014. — №1. — С. 65–68.
2. Корниенко И.В., Водолажский Д.И., Вейко В.П., Щербаков В.В., Иванов П.Л. — Ростов-на-Дону: Ростиздат, 2001. — 259 с.
3. Мазуренко Н.Н., Гагарин И.М., Цыганкова И.В., Мочальникова В.В., Бредер В.В., Горбунова В.А. Частота и спектр мутаций *KRAS* в метастатическом колоректальном раке // Вопросы онкологии. — 2013. — Т. 59, №6. — С. 65–68.
4. Amado R.G., Wolf M., Peeters M. Wild-type *KRAS* is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer // J. Clin. Oncol. — 2008. — Vol. 26(10). — P. 1626–1634.

5. Bokemeyer, C., Bondarenko I., Hartmann J.T. Efficacy according to biomarker status of cetuximab plus FOLFOX-4 as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: the OPUS study // *Ann. Oncol.* — 2011. — Vol. 22(7). — P. 1535–1546.
6. Bos J. RAS oncogenes in human cancer: a review // *Cancer Res.* — 1989. — Vol. 49, №17. — P. 4682–4689.
7. Brink M., de Goeij A. F.P.M., Weijenberg M.P., Roemen G.M.J.M., Lentjes M.H.F.M. et al. K-ras oncogene mutations in sporadic colorectal cancer in The Netherlands Cohort Study // *Carcinogenesis*. — 2003. — Vol. 24, №4. — P. 703–710.
8. Cao K.J., Ma G.S., Liu Y.L., Liu Y.L., Wan D.S. Incidence of colorectal cancer in Guangzhou City from 2000 to 2002 // *Chinese journal of cancer*. — 2009. — Vol. 28. — P. 441–444.
9. Capella G., Cronauer-Mitra S., Pienado M.A., Perucho M. Frequency and spectrum of mutations at codons 12 and 13 of the c-KRAS gene in human tumours // *Environ. Health Perspect.* — 1991. — Vol. 93. — P. 125–131.
10. Engelman J.A., Settleman J. Acquired resistance to tyrosine kinase inhibitors during cancer therapy // *Curr. Opin. Genet. Dev.* — 2008. — Vol. 18. — P. 73–79.
11. Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012 [электронный ресурс]. — режим доступа: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx.
12. Ferreira C.G., Aran V., Zalberg-Renault I., Victorino A.P., Salem J.H., Bonamino M.H., Vieira F.M., Zalis M. KRAS mutations: variable incidences in a Brazilian cohort of 8,234 metastatic colorectal cancer patients // *BMC Gastroenterology*. — 2014. — Vol. 14. — P. 73.
13. Forbes S.A., Bindal N., Bamford S. et al. COSMIC: mining complete cancer genomes in the Catalogue of Somatic Mutations in Cancer // *Nucleic Acids Res.* — 2011. — Vol. 39. — P. 945–950.
14. Lamy A., Blanchard F., Le Pessot F., Sesboue R., Di Fiore F., Bossut J., Fiant E., Frebourg T., Sabourin J.C. Metastatic colorectal cancer KRAS genotyping in routine practice: results and pitfalls // *Mod. Pathol.* — 2011. — Vol. 24, №8. — P. 1090–1100.
15. Neumann J., Zeindl-Eberhart E., Kirchner T., Jung A., Frequency and type of KRAS mutations in routine diagnostic analysis of metastatic colorectal cancer // *Pathol. Res. Pract.* — 2009. — Vol. 205, №12. — P. 858–862.
16. Shen H., Yuan Y., Hu H.G., Zhong X., Ye X.X., Li M.D., Fang W.J., Zheng S. Clinical significance of K-ras and BRAF mutations in Chinese colorectal cancer patients // *World J. Gastroenterol.* — 2011. — Vol. 17(6). — P. 809–816.
17. Tejpar S., Celik I., Schlichting M., Sartorius U. Association of KRAS G13D Tumor Mutations with outcome in patients with Metastatic Colorectal Cancer treated with first-line Chemotherapy with or without Cetuximab // *J. Clin. Oncol.* — 2012. — Vol. 30, №29. — P. 3570–3577.

Frequency of *KRAS* gene mutations in different clinical subgroups of patients with colorectal cancer In the Southern region of Russia

Kit O.I., Vodolazhsky D.I., Dvadenko K.V., Gudueva E.N., Kutilin D.S., Gevorgyan Y.A., Vladimirova L.Yu.

In the group of patients (N = 401) in Southern Russia with a diagnosis of colorectal cancer analysis of mutations in the *KRAS* gene in different clinical groups by Real-Time PCR. Included in the study, patients were divided into groups according to age, sex, primary tumor, the degree of differentiation of tumor cells, the presence of lymph nodes, liver metastases, and other organs. Were analyzed frequency 7 missense mutations in codons 12 and 13 of gene *KRAS*. Statistically significant associations manifestation of the mutant-type *KRAS* gene with clinical and morphological features of the patients. A comparison of the frequency and spectrum of mutations in *KRAS* data of foreign and domestic authors.

Key words: colorectal cancer (CRC), *KRAS*, mutations, Southern region of Russia, metastasis, Real-Time PCR

Содержание журнала «Медицинская генетика» в 2014 г.

Медицинская генетика. — 2014. — Т. 13, №1 (139)

Оригинальные исследования

Спицын В.А., Макаров С.В., Моргулис Н.Б.,
Ельчинова Г.И., Карапетян М.К.
Соотношение инсерционно-делеционного полиморфизма
в гене *CHIT1* с уровнем активности хитотриозидазы
в русской популяции3

Барашков Н.А., Джемилева Л.У., Посух О.Л.,
Соловьев А.В., Бады-Хоо М.С., Пшенникова В.Г.,
Терютин Ф.М., Лобов С.Л., Неустроева А.Б.,
Куртанов Х.А., Васильева Л.М., Федотова Э.Е.,
Рафаилов А.М., Соловьева Н.А., Кононова С.К.,
Алексеев А.Н., Федорова С.А., Хуснутдинова Э.К.
Анализ анкетирования родителей детей-инвалидов по слуху
в Якутии, Тыве и Башкортостане:
мнение слышащих родителей о причинах
потери слуха у ребенка с последующим сравнением
с результатами ДНК-тестирования гена *GJB2* (Cx26)8

Бады-Хоо М.С., Посух О.Л., Зоркольева И.В.,
Скиданова О.В., Барашков Н.А., Омзар О.С.,
Монгуш Р.Ш., Бамба О.М., Тукар В.М.,
Зыцарь М.В., Михальская В.Ю.
Изучение наследственных форм тугоухости/глухоты
в Республике Тыва.
Сообщение I.
Эпидемиология нарушений слуха в Республике Тыва17

Логунов Н.А., Никитин Я.О.,
Собанчеев Е.В., Витковский Ю.А.
Влияние полиморфизма гена
эндотелиальной синтазы оксида азота
на толщину слоя нервных волокон сетчатки при различных
схемах гипотензивной терапии у больных глаукомой27

Исакова Ж.Т., Лунегова О.С., Исаев М.К.,
Асамбаева Д.А., Талайбекова Э.Т., Исакова М.Т.,
Тологонов М.Т., Алдашев А.А.
Ассоциация полиморфизма C677T
гена метилентетрагидрофолатредуктазы
с развитием метаболического синдрома и ожирения
в кыргызской популяции33

Марков А.В., Назаренко М.С., Королева Ю.А.,
Лебедев И.Н., Слепцов А.А., Фролов А.В., Попов В.А., Бар-
бараш О.Л., Барбараш Л.С., Пузырев В.П.
Уровень метилирования промоторного региона гена *HOXD4*
у больных атеросклерозом39

Информация

Правила оформления статей в журнале «Медицинская генетика»43

Медицинская генетика. — 2014. — Т. 13, №2 (140)

Оригинальные исследования

Вербицкая Н.А., Беляева Т.И., Тронева С.Г., Ворошнин В.В.
Скрининг на синдром Дауна в первом триместре:
определение свободного β -ХГЧ и PAPP-A
в сыворотке и в сухих пятнах крови3

Хусаинова Р.И., Мальцев А.В., Хуснутдинова Э.К.
Исследование полиморфизма сайтов связывания микроРНК
у больных постменопаузальным остеопорозом8

Ахмедова П.Г., Зинченко Р.А., Угаров И.В.,
Умаханова З.Р., Магомедова Р.М.
Эпидемиология наследственных
нервно-мышечных заболеваний в Республике Дагестан19

Миньженкова М.Е., Шилова Н.В., Маркова Ж.Г.,
Козлова Ю.О., Золотухина Т.В.
Эффективность различных методов диагностики
хромосомных аномалий при репродуктивных потерях25

Баранова Е.Е., Сергеев А.С., Иванова Л.Ю.,
Журавлева И.В., Ижевская В.Л., Гинтер Е.К.
Комплексная оценка эффективности
медико-генетического консультирования.
Сообщение III.
Эффективность обучения консультирующихся31

Письмо к редактору

Мазунин И.О.
Мутация 14498 мтДНК: рокировка букв37

Информация

Правила оформления статей в журнале «Медицинская генетика»39

Медицинская генетика. — 2014. — Т. 13, №3 (141)

Научные обзоры

Баранов В.С.
Проблемы системной генетики некоторых
частых многофакторных заболеваний3

Кашеварова А.А., Лебедев И.Н.
Архитектура генома: генетическое разнообразие
и хромосомные болезни11

Саженова Е.А., Лепшин М.В., Лебедев И.Н.
Множественные эпимутации импринтома
при нарушении репродукции человека19

Оригинальные исследования

Иващенко Т.Э., Насыхова Ю.А., Гембицкая Т.Е.,
Орлов А.В., Черменский А.Г., Баранов В.С.
Анализ мутаций у больных муковисцидозом методом
полноэкзомного секвенирования гена *CFTR*28

Стрельников В.В., Танас А.С., Руденко В.В.,
Кузнецова Е.Б., Залетаев Д.В.
Геномный анализ метилирования ДНК с использованием
секвенирования нового поколения32

Информация

Правила оформления статей в журнале «Медицинская генетика»38

Медицинская генетика. — 2014. — Т. 13, №4 (142)

Научные обзоры

Султанова Р.И., Хусаинова Р.И., Надыршина Д.Д.,
Нургалиева А.Х., Хуснутдинова Э.К.
Клинико-генетические аспекты интракраниальных аневризм3

Шильникова Е.М., Мазилина М.А., Федорова И.Д.
Нарушение целостности ДНК сперматозоидов человека:
причины, методы исследования, влияние на исход
программ вспомогательных репродуктивных технологий11

Хусаинова Р.И., Хуснутдинова Э.К.

Современные представления
о генетических аспектах остеопороза20

Оригинальные исследования

Батенева Е.И., Максименко В.А., Кадочникова В.В.,
Кофиади И.А., Трофимов Д.Ю.,
Рагимов А.А., Алексеев Л.П.
Выявление мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* —
перспективность проведения генетического скрининга
на базе организаций службы крови30

Волков А.Н., Лошакова Л.Ю., Падюкова А.Д.
Полиморфизм генетических маркеров *rs2245803* (Lys18Thr)
и *rs1784423* (Val275Ala) гена *MMP20*
у детей дошкольного возраста с различным уровнем кариеса.....35

Баканова М.Л., Минина В.И., Савченко Я.А.,
Рыжкова А.В., Головина Т.А., Титов В.А.,
Вержбицкая Н.Е., Вафин И.А., Рагожина С.Е.
Хромосомные aberrации в лимфоцитах периферической крови
у больных раком лёгкого,
проживающих в Кемеровской области.....39

Минайчева Л.И., Куровский А.В., Назаренко Л.П.
Сравнительный анализ частоты врождённых пороков развития
у новорожденных в сибирских популяциях44

Медицинская генетика. — 2014. — Т. 13, №5 (143)

Научные обзоры

Баранов В.С.
Становление, развитие и перспективы медицинской генетики
в Санкт-Петербурге3

Буйкин С.В., Кучер А.Н., Пузырев В.П.
Проблемы эффективного использования ресурсов
в биомедицинских исследованиях
(от биологических коллекций к биобанкам).....10

Оригинальные исследования

Ижевская В.Л., Иванова Л.Ю., Борзов Е.А.,
Журавлева И.В., Гинтер Е.К.
Результаты анкетирования родителей
больных фенилкетонурией детей.
Сообщение 2. Информированность родителей
о генетическом риске и пренатальной диагностике
фенилкетонурии.....17

Гареева А.Э., Хуснутдинова Э.К.
Анализ ассоциации ряда полиморфных локусов
генов *CACNA1C*, *ITIH4*, *ANK3*, *HIST1H2AG* с риском развития
параноидной шизофрении и ответом на галоперидол25

Шубин В.П., Поспехова Н.И., Цуканов А.С., Рыбаков Е.Г.,
Панина М.В., Сушков О.И., Ачкасов С.И., Жданкина С.Н.,
Кашников В.Н., Фролов С.А., Шелыгин Ю.А.
Частота и спектр мутаций в гене *KRAS* при раке толстой кишки
разной локализации и раке анального канала.....31

Бабушкина Н.П., Кучер А.Н., Буйкин С.В.,
Голубенко М.В., Макеева О.А., Брагина Е.Ю.,
Гончарова И.А., Тарасенко Н.В., Пузырев К.В.,
Шипулин В.М., Пузырев В.П.
Ассоциации полиморфных вариантов
генов ядерного и митохондриального геномов
с ишемической болезнью сердца.....36

Информация

Правила оформления статей в журнале «Медицинская генетика».....47

Медицинская генетика. — 2014. — Т. 13, №6 (144)

Оригинальные исследования

Жученко Л.А., Голошубов П.А., Андреева Е.Н.,
Калашникова Е.А., Юдина Е.В., Ижевская В.Л.
Анализ результатов раннего пренатального скрининга,
выполняющегося по национальному приоритетному проекту
«Здоровье» в субъектах Российской Федерации.
Результаты российского мультицентрового исследования
«Аудит-2014»3

Информация

Правила оформления статей в журнале «Медицинская генетика».....55

Медицинская генетика. — 2014. — Т. 13, №7 (145)

Оригинальные исследования

Жученко Л.А., Голошубов П.А., Андреева Е.Н., Калашникова Е.А., Юдина Е.В., Латыпов А.Ш., Ижевская В.Л., Филиппов О.С., Никонов А.М., Корзникова Е.А., Чекрий О.В., Самохвалов В.А., Шальнев В.В., Судаков А.Г., Немцова Л.Н., Чунихина Л.П., Поздеева Т.Ю., Фесик О.А., Кузнецова С.В., Ново-
лоцкая О.А., Лаптева И.А., Петрова Е.Г., Грященко В.Н., Каси-
мова О.В., Курбангалиева Н.В., Зернаева Н.П., Корнева Ю.А.,
Воронова Ю.В., Виноградова С.В., Шаповалова И.А., Федото-
ва Т.В., Колпакова Е.В., Киреева Г.В., Федотов В.П., Климо-
ва М.И., Машнева Е.Ю., Мельников В.В., Маюн Ю.Л., Пани-
на И.А., Бунина Е.Н., Жукова Т.П., Артемичева И.Л., Кутю-
вая Е.И., Хромова Е.Ю., Самойлова Т.Н., Филиппук А.Н., Зуе-
ва И.А., Лунина Н.Н., Гарцман Н.И., Новик М.А., Стяжки-
на О.Б., Азаровская Г.В., Лазарева Н.И., Кузьмичева И.А., Ка-
вочкина В.А., Дмитриева Т.Т., Шамакова М.Б., Лычак А.В.,
Лысенко Д.И., Магатина А.Д., Алексеева М.Г., Елесина Ю.Ю.,
Ботвиньева И.А., Серебренникова Т.Е., Стародумова Е.В., Си-
тякова Т.А., Юферева Е.В., Матулевич С.А., Бареева О.В., Пав-
ленко Н.Е., Кривоносова Н.В., Геворкян Е.П., Елизарье-
ва Т.Ю., Болдырева О.В., Шевченко Е.А., Харитонов Я.В., Ти-
това А.В., Мораш Т.М., Павельева О.П., Кожухов А.С., Ке-
ня А.Н., Кононенко Н.И., Ржевкина Н.Н., Кононова М.В., Куд-
рявцева О.К., Тюрина Г.Л., Железнова М.А., Комкова Г.В., Ке-
кеева Т.Н., Лагуева Ф.К., Одегова Н.О., Степнова С.В., Селю-
тина М.Г., Воскобоева Е.Ю., Давыдова О.Н., Иванюк А.С., Ко-
каровцева С.Н., Семенова Е.А., Серкова Н.А., Соколова А.И.,
Судакова Е.В., Цветкова Т.Г., Мирошникова И.В., Черняки-
на О.Ф., Сосницкая С.В., Лукьянова Т.В., Некрасова Т.М., Га-
пай Т.П., Осыкина П.В., Скоробогатько О.А., Новикова Е.А., Ко-
стина О.И., Ример А.И., Шушарина-Левун О.Ю., Герасимен-
ко Н.Ю., Костенко Е.Б., Долгих Т.И., Беляшова Е.Ю., Цымба-
лова И.П., Осокин А.Е., Полунова Т.Я., Шелкова Е.В., Касьяно-
ва Л.В., Рязанова О.А., Дудкин И.А., Филиппова О.В., Старо-
дубова Е.А., Евсеева Т.Н., Солуянова Л.А., Курилова В.И., Сах-
тарьёк З.Н., Дзыбова З.Р., Ткаченко Л.Н., Байрамгулов Ф.М.,
Марданова А.К., Ахмадуллина М.К., Сангизова В.В., Ереми-
на Е.Р., Юмтарова З.А., Беляева В.Н., Шапапова Г.Ш., Арте-
мьева М.В., Шведун Е.В., Малинина Т.А., Баринаева А.Э., Алек-
сеева Т.Л., Коленченко Л.В., Тимохина М.В., Казанцева В.М.,
Жуков И.В., Альмиз Л.Н., Храмынина С.С., Кондрашова Л.Ю.,
Семина В.И., Вафина З.И., Терегулова Л.Е., Двуречен-
ская Л.И., Вардамова И.Г., Шипачева О.М., Тайзутдино-
ва Л.А., Абушева А.В., Токтарова О.А., Новикова Л.А., Чильга-
шева О.В., Кожевникова Е.А., Тогочакова О.К., Жиглова И.М.,
Можеева Н.Н., Бордаева О.Ю., Шокарев Р.А., Якубов-
ский Г.И., Касатина Н.М., Серебрякова О.Б., Шумская Е.И.,
Круглова О.В., Тезикова Т.А., Кашеева Т.К., Коротеев А.Л., Ро-
маненко О.П., Карпов К.П., Воронин Д.В., Вохмянина Н.В.,
Биньковская А.В., Ивченкова Н.П., Лернер Л.А., Занори-
на Т.Е., Костырко Э.И., Талолина О.А., Николаева Е.Б., Ша-

манская Е.Ф., Ворошнин В.В., Лукина Н.В., Степанькова Е.А., Румянцева Н.Я., Романкова Т.М., Агеева Л.В., Лиманская Н.Г., Бутко Н.В., Петрова А.Н., Асеева Т.И., Панкова Е.В., Федорова И.А., Назаренко Л.П., Рудко А.А., Филиппова М.О., Корф М.П., Вовк С.Л., Пузырев К.В., Юдинцева Т.В., Заикина Ф.Я., Гребенкина Л.Л., Михальчук В.В., Новоселов А.Г., Хмелева Е.Ф., Осипова Е.В., Кузнецова О.П., Васильева Н.Е., Сикора Н.В., Никишина М.В., Моисеева Н.В., Колбасин Л.Н., Потапова Н.Е., Зубайдуллина С.Р., Бойко И.В., Шумаков С.Ю., Фоминых Т.К., Саваскина Е.Н., Майкова Л.П., Казенова Д.А., Веледницкий В.Б., Абрамова Н.С., Гонтова Е.В., Сягин А.А., Шершнева К.А., Сахарова Ю.С., Абросимова М.Ю., Зарчукова Л.Н., Некрасова Е.С.

Аудит раннего пренатального скрининга
в субъектах Российской Федерации.

Часть 1. Алтайский край — Пермский край.....3

Медицинская генетика. — 2014. — Т. 13, №8 (146)

Оригинальные исследования

Жученко Л.А., Голошубов П.А., Андреева Е.Н., Калашникова Е.А., Юдина Е.В., Латыпов А.Ш., Ижевская В.Л., Филиппов О.С., Никонов А.М., Корзников Е.А., Чекрый О.В., Самохвалов В.А., Шальнев В.В., Судаков А.Г., Немцова Л.Н., Чунихина Л.П., Поздеева Т.Ю., Фесик О.А., Кузнецова С.В., Новолоцкая О.А., Лаптева И.А., Петрова Е.Г., Грященко В.Н., Касимова О.В., Курбангалиева Н.В., Зернаева Н.П., Корнева Ю.А., Воронова Ю.В., Виноглядова С.В., Шаповалова И.А., Федотова Т.В., Колпакова Е.В., Киреева Г.В., Федотов В.П., Климова М.И., Машнева Е.Ю., Мельников В.В., Маюн Ю.Л., Панина И.А., Бунина Е.Н., Жукова Т.П., Артемичева И.Л., Кутюева Е.И., Хромова Е.Ю., Самойлова Т.Н., Филиппчук А.Н., Зуева И.А., Лунина Н.Н., Гарцман Н.И., Новик М.А., Стяжкина О.Б., Азаровская Г.В., Лазарева Н.И., Кузьмичева И.А., Кавочкина В.А., Дмитриева Т.Т., Шамакова М.Б., Лычак А.В., Лысенко Д.И., Магатица А.Д., Алексеева М.Г., Елесина Ю.Ю., Ботвиньева И.А., Серебренникова Т.Е., Стародумова Е.В., Ситякова Т.А., Юферева Е.В., Матулович С.А., Бареева О.В., Павленко Н.Е., Кривоносова Н.В., Геворкян Е.П., Елизарьева Т.Ю., Болдырева О.В., Шевченко Е.А., Харитонов Я.В., Титова А.В., Мораш Т.М., Павельева О.П., Кожухов М.А., Кеня А.Н., Кононенко Н.И., Ржевкина Н.Н., Кононова М.В., Кудрявцева О.К., Тюрин Г.Л., Железнова М.А., Комкова Г.В., Кекеева Т.Н., Лагуева Ф.К., Одогова Н.О., Степнова С.В., Селютин М.Г., Воскобоева Е.Ю., Давыдова О.Н., Иванюк А.С., Кокаровцева С.Н., Семенова Е.А., Серкова Н.А., Соколова А.И., Судакова Е.В., Цветкова Т.Г., Мирошникова И.В., Черныкина О.Ф., Сосницкая С.В., Лукьянова Т.В., Некрасова Т.М., Гапай Т.П., Оськина П.В., Скоробогатько О.А., Новикова Е.А., Костина О.И., Ример А.И., Шушарина-Левун О.Ю., Герасименко Н.Ю., Костенко Е.Б., Долгих Т.И., Беляшова Е.Ю., Цымбалова И.П., Осокин А.Е., Полунова Т.Я., Шелкова Е.В., Касьянова Л.В., Рязанова О.А., Дудкин И.А., Филиппова О.В., Стародубова Е.А., Евсеева Т.Н., Солуянова Л.А., Курилова В.И., Сахарьёв З.Н., Дзыбова З.Р., Ткаченко Л.Н., Байрамгулов Ф.М., Марданова А.К., Ахмадуллина М.К., Сангизова В.В., Еремина Е.Р., Юмтарова З.А., Беляева В.Н., Шарпова Г.Ш., Артемьева М.В., Шведун Е.В., Малинина Т.А., Барина А.Э., Алексеева Т.Л., Коленченко Л.В., Тимохина М.В., Казанцева В.М., Жуков И.В., Альмиз Л.Н., Храмина С.С., Кондрашова Л.Ю., Семин В.И., Вафина З.И., Тергулова Л.Е., Двуреченская Л.И., Вардамова И.Г., Шипачева О.М., Тайзутдинова Л.А., Абусева А.В., Токтарова О.А., Новикова Л.А., Чильгашева О.В., Кожевникова Е.А., Тогочакова О.К., Жиглова И.М., Можеева Н.Н., Бордаева О.Ю., Шокарев Р.А., Якубовский Г.И., Касатина Н.М., Серебряко-

ва О.Б., Шумская Е.И., Круглова О.В., Тезикова Т.А., Кашеева Т.К., Коротеев А.Л., Романенко О.П., Карпов К.П., Воронин Д.В., Вохмянина Н.В., Биньковская А.В., Ивченкова Н.П., Лернер Л.А., Занорина Т.Е., Костырко Э.И., Талолина О.А., Николаева Е.Б., Шаманская Е.Ф., Ворошнин В.В., Лукина Н.В., Степанькова Е.А., Румянцева Н.Я., Романкова Т.М., Агеева Л.В., Лиманская Н.Г., Бутко Н.В., Петрова А.Н., Асеева Т.И., Панкова Е.В., Федорова И.А., Назаренко Л.П., Рудко А.А., Филиппова М.О., Корф М.П., Вовк С.Л., Пузырев К.В., Юдинцева Т.В., Заикина Ф.Я., Гребенкина Л.Л., Михальчук В.В., Новоселов А.Г., Хмелева Е.Ф., Осипова Е.В., Кузнецова О.П., Васильева Н.Е., Сикора Н.В., Никишина М.В., Моисеева Н.В., Колбасин Л.Н., Потапова Н.Е., Зубайдуллина С.Р., Бойко И.В., Шумаков С.Ю., Фоминых Т.К., Саваскина Е.Н., Майкова Л.П., Казенова Д.А., Веледницкий В.Б., Абрамова Н.С., Гонтова Е.В., Сягин А.А., Шершнева К.А., Сахарова Ю.С., Абросимова М.Ю., Зарчукова Л.Н., Некрасова Е.С.

Аудит раннего пренатального скрининга
в субъектах Российской Федерации.

Часть 2. Республика Адыгея — Ярославская область3

Медицинская генетика. — 2014. — Т. 13, №9 (147)

Научные обзоры

Апанович Н.В., Апанович П.В., Карпунин А.В.
Молекулярно-генетические характеристики
и маркеры почечно-клеточной карциномы3

Никитина В.А., Жанатаев А.К., Чаушева А.И., Куцев С.И.
Применение метода гель-электрофореза отдельных клеток
в комбинации с флуоресцентной гибридизацией *in situ*
для прицельной оценки ДНК-повреждений11

Оригинальные исследования

Тюрин А.В., Хусаинова Р.И., Хуснутдинова Н.Н.,
Давлетшин Р.А., Хуснутдинова Э.К.
Поиск ассоциаций полиморфных вариантов
гена рецептора витамина D (*VDR*)
с остеоартритом и дисплазией соединительной ткани18

Бабушкина Н.П., Кучер А.Н., Буйкин С.В., Голубенко М.В.,
Макеева О.А., Шипулин В.М., Пузырев В.П.
Роль полиморфных вариантов
генов ядерного и митохондриального геномов
в детерминации эндотипов ишемической болезни сердца ..28

Хидиятова И.И., Азнабаев М.Т., Хидиятова И.М.,
Авхадева С.Р., Джемилова Л.У., Зинченко Р.А.,
Хуснутдинова Э.К.
Анализ гена коннексина 50 (*GJA8*) у больных с наследственной
врожденной катарактой из Республики Башкортостан37

Джамбетова П.М., Сычева Л.П.,
Абилев С.К., Солтаева А.М.-Х.
Комплексное исследование влияния нефтезагрязнения
на генетическое здоровье детей42

Информация

Правила оформления статей в журнале «Медицинская генетика».....47

Медицинская генетика. — 2014. — Т. 13, №10 (148)

Научные обзоры

Сивецкая Л.Н., Даниленко Н.Г.,
Барановская Е.И., Давыденко Г.Г.
Гестоз: некоторые генетические механизмы его развития.....3

Оригинальные исследования

Пузырев В.П., Назаренко М.С., Лебедев И.Н., Марков А.В., Слепцов А.А., Кашеварова А.А., Толмачёва Е.Н., Фролов А.В., Попов В.А., Барбараш О.Л., Барбараш Л.С.
Феномен парадоминантного наследования при атеросклерозе10

Адян Т.А., Руденская Г.Е., Дадали Е.Л., Грознова О.С., Влодавец Д.В., Федотов В.П., Рыжкова О.П., Поляков А.В.
Мышечная дистрофия Эмери—Дрейфуса: молекулярно-генетические, фенотипические характеристики и дифференциальная диагностика18

Шувалова Ю.А., Каминная В.И., Хасанова З.Х., Самойлова Е.В., Коротаева А.А., Каминный А.И.
Связь полиморфизмов гена секреторной фосфолипазы A2-IIA и уровня фермента у больных стабильной ИБС29

Гималова Г.Ф., Карунас А.С., Федорова Ю.Ю., Гуменная Э.Р., Левашева С.В., Хантимерова Э.Ф., Эткина Э.И., Загидуллин Ш.З., Хуснутдинова Э.К.
Роль полиморфных вариантов генов цитокинов в развитии атопического дерматита35

Гинтер Е.К., Галкина В.А., Дадали Е.Л., Хлебникова О.В., Кадышев В.В., Гаврилина С.Г., Петрин А.Н., Михайлова Л.К., Ельчинова Г.И., Петрова Н.В., Васильева Т.А., Бессонова Л.А., Зинченко Р.А.
Медико-генетическое изучение населения Республики Татарстан. Сообщение VI. Отягощённость моногенной наследственной патологией в восьми районах41

Медицинская генетика. — 2014. — Т. 13, №11 (149)**Научные обзоры**

Шаймарданова Э.Х., Нургалиева А.Х., Надыршина Д.Д., Хуснутдинова Э.К.
Молекулярно-генетические аспекты язвенной болезни3

Оригинальные исследования

Зинченко Р.А., Галкина В.А., Дадали Е.Л., Хлебникова О.В., Михайлова Л.К., Кадышев В.В., Гаврилина С.Г., Петрин А.Н., Ельчинова Г.И., Поляков А.В., Стрельников В.В., Залетаев Д.В., Васильева Т.А., Петрова Н.В., Петрина Н.Е., Захарова Е.Ю., Бессонова Л.А., Гинтер Е.К.
Медико-генетическое изучение населения Республики Татарстан. VII. Разнообразие наследственной патологии в восьми районах15

Бады-Хоо М.С., Бондарь А.А., Морозов И.В., Зыцарь М.В., Михальская В.Ю., Скиданова О.В., Барашков Н.А., Монгуш Р.Ш., Омзар О.С., Тукар В.М., Посух О.Л.
Изучение наследственных форм тугоухости/глухоты в Республике Тыва. Сообщение II.

Оценка спектра мутаций в гене *GJB2* (Cx26) и их вклада в этиологию потери слуха30

Алексеева Е.А., Танас А.С., Прозоренко Е.В., Зайцев А.М., Кирсанова О.Н., Самарин А.Е., Залетаев Д.В., Стрельников В.В.
Анализ аллельного дисбаланса при глиобластоме: новые хромосомные участки потери гетерозиготности и новые гены-кандидаты41

Информация

Правила оформления статей в журнале «Медицинская генетика»47

Медицинская генетика. — 2014. — Т. 13, №12 (150)**Оригинальные исследования**

Зинченко Р.А., Ельчинова Г.И., Васильева Т.А., Петрова Н.В., Петрин А.Н., Гинтер Е.К.
Медико-генетическое изучение населения Республики Татарстан. Сообщение VIII.
Анализ основных факторов микроэволюционного процесса в формировании груза и разнообразия наследственной патологии и в дифференциации субпопуляций3

Топчиева Л.В., Малышева И.Е., Курбатова И.В., Корнева В.А., Степанова А.И., Немова Н.Н.
Анализ ассоциации полиморфного маркера -308G>A гена *TNF* с развитием эссенциальной артериальной гипертензии у жителей Карелии11

Амарян Г.Г., Саркисян Т.Ф., Айрапетян А.С., Тадевосян А.Э.
Клинические и генетические корреляции при периодической болезни у детей в Армении16

Золотухина Т.В., Канивец И.В., Коростелев С.А., Шилова Н.В., Миньженкова М.Е., Козлова Ю.О., Демина Н.А., Бессонова Л.А., Галкина В.А., Маркова Ж.Г.
Опыт использования комплекса современных методов исследования в конституциональной цитогенетике22

Голивец Л.Т., Круглова О.В., Гусарова Е.А., Цыганкова П.Г., Захарова Е.Ю.
Селективный скрининг на болезнь Фабри29

Кит О.И., Водолажский Д.И., Двадненко К.В., Гудуева Е.Н., Кутилин Д.С., Геворкян Ю.А., Владимиров Л.Ю.
Частота мутаций в гене *KRAS* в различных клинических группах пациентов Юга России с колоректальным раком35

Информация

Содержание журнала «Медицинская генетика» в 2013 г.42

Алфавитный указатель авторов журнала «Медицинская генетика» в 2013 г.46

Правила оформления статей в журнале «Медицинская генетика»50

Алфавитный указатель авторов журнала «Медицинская генетика в 2014 г.

Абилов С.К.	№9. — С. 42	Барбараш О.Л.	№1. — С. 39	Ворошнин В.В.	№2. — С. 3
Абрамова Н.С.	№7—8. — С. 3		№10. — С. 10		№7—8. — С. 3
Абросимова М.Ю.	№7—8. — С. 3	Бареева О.В.	№7—8. — С. 3	Воскобоева Е.Ю.	№7—8. — С. 3
Абусева А.В.	№7—8. — С. 3	Барина А.Э.	№7—8. — С. 3	Вохмянина Н.В.	№7—8. — С. 3
Авхадеева С.Р.	№9. — С. 37	Батенева Е.И.	№4. — С. 30	Гаврилина С.Г.	№10. — С. 41
Агеева Л.В.	№7—8. — С. 3	Беляева Т.И.	№2. — С. 3		№11. — С. 15
Адян Т.А.	№10. — С. 18	Беляева В.Н.	№7—8. — С. 3	Галкина В.А.	№10. — С. 41
Азаровская Г.В.	№7—8. — С. 3	Беляшова Е.Ю.	№7—8. — С. 3		№11. — С. 15
Азнабаев М.Т.	№9. — С. 37	Бессонова Л.А.	№10. — С. 41		№12. — С. 22
Айрапетян А.С.	№12. — С. 16		№11. — С. 15	Гапай Т.П.	№7—8. — С. 3
Алдашев А.А.	№1. — С. 33		№12. — С. 22	Гареева А.Э.	№5. — С. 25
Алексеев А.Н.	№1. — С. 8	Биньковская А.В.	№7—8. — С. 3	Гарцман Н.И.	№7—8. — С. 3
Алексеев Л.П.	№4. — С. 30	Бойко И.В.	№7—8. — С. 3	Геворкян Е.П.	№7—8. — С. 3
Алексеева Е.А.	№11. — С. 41	Болдырева О.В.	№7—8. — С. 3	Геворкян Ю.А.	№12. — С. 35
Алексеева М.Г.	№7—8. — С. 3	Бондарь А.А.	№11. — С. 30	Гембицкая Т.Е.	№3. — С. 28
Алексеева Т.Л.	№7—8. — С. 3	Бордаева О.Ю.	№7—8. — С. 3	Герасименко Н.Ю.	№7—8. — С. 3
Альмиз Л.Н.	№7—8. — С. 3	Борзов Е.А.	№5. — С. 17	Гималова Г.Ф.	№10. — С. 35
Амарян Г.Г.	№12. — С. 16	Ботвиньева И.А.	№7—8. — С. 3	Гинтер Е.К.	№2. — С. 31
Андреева Е.Н.	№6. — С. 3	Брагина Е.Ю.	№5. — С. 36		№5. — С. 17
.	№7—8. — С. 3	Буйкин С.В.	№5. — С. 10, С. 36		№10. — С. 41
Апанович Н.В.	№9. — С. 3		№9. — С. 28		№11. — С. 15
Апанович П.В.	№9. — С. 3	Бунина Е.Н.	№7—8. — С. 3		№12. — С. 3
Артемичева И.Л.	№7—8. — С. 3	Бунина Е.Н.	№8. — С. 3	Голивец Л.Т.	№12. — С. 29
Артемяева М.В.	№7—8. — С. 3	Бутко Н.В.	№7—8. — С. 3	Головина Т.А.	№4. — С. 39
Асамбаева Д.А.	№1. — С. 33	Вардамова И.Г.	№7—8. — С. 3	Голошубов П.А.	№6. — С. 3
Асеева Т.И.	№7—8. — С. 3	Васильева Л.М.	№1. — С. 8		№7—8. — С. 3
Ахмадуллина М.К.	№7—8. — С. 3	Васильева Т.А.	№10. — С. 41		№9. — С. 28
Ахмедова П.Г.	№2. — С. 19		№11. — С. 15	Голубенко М.В.	№5. — С. 36
Ачкасов С.И.	№5. — С. 31		№12. — С. 3		№9. — С. 28
Бабушкина Н.П.	№5. — С. 36	Васильева Н.Е.	№7—8. — С. 3	Гонтова Е.В.	№7—8. — С. 3
.	№9. — С. 28	Вафин И.А.	№4. — С. 39	Гончарова И.А.	№5. — С. 36
Бады-Хоо М.С.	№1. — С. 8, С. 17	Вафина З.И.	№7—8. — С. 3	Гребенкина Л.Л.	№7—8. — С. 3
.	№11. — С. 30	Веледницкий В.Б.	№7—8. — С. 3	Грознова О.С.	№10. — С. 18
Байрамгулов Ф.М.	№7—8. — С. 3	Вербицкая Н.А.	№2. — С. 3	Грященко В.Н.	№7—8. — С. 3
Баканова М.Л.	№4. — С. 39	Вержбицкая Н.Е.	№4. — С. 39	Гуменная Э.Р.	№10. — С. 35
Бамба О.М.	№1. — С. 17	Виноглядова С.В.	№7—8. — С. 3	Гусарова Е.А.	№12. — С. 29
Баранов В.С.	№3. — С. 3, С. 28	Витковский Ю.А.	№1. — С. 27	Давлетшин Р.А.	№9. — С. 18
.	№5. — С. 3	Владимирова Е.Ю.	№12. — С. 35	Давыденко О.Г.	№10. — С. 3
Баранова Е.Е.	№2. — С. 31	Влодавец Д.В.	№10. — С. 18	Давыдова О.Н.	№7—8. — С. 3
Барановская Е.И.	№10. — С. 3	Вовк С.Л.	№7—8. — С. 3	Дадали Е.Л.	№10. — С. 18, С. 41
Барашков Н.А.	№1. — С. 8, С. 17	Водолажский Д.И.	№12. — С. 35		№11. — С. 15
.	№11. — С. 30	Волков А.Н.	№4. — С. 35	Даниленко Н.Г.	№10. — С. 3
Барбараш Л.С.	№1. — С. 39	Воронин Д.В.	№7—8. — С. 3	Двадненко К.В.	№12. — С. 35
.	№10. — С. 10	Воронова Ю.В.	№7—8. — С. 3	Двуреченская Л.И.	№7—8. — С. 3
				Демина Н.А.	№12. — С. 22

- Джамбетова П.М. №9. — С. 42
 Джемилева Л.У. №1. — С. 8
 №9. — С. 37
 Дзыбова З.Р. №7—8. — С. 3
 Дмитриева Т.Т. №7—8. — С. 3
 Долгих Т.И. №7—8. — С. 3
 Дудкин И.А. №7—8. — С. 3
 Евсеева Т.Н. №7—8. — С. 3
 Елесина Ю.Ю. №7—8. — С. 3
 Елизарьева Т.Ю. №7—8. — С. 3
 Ельчинова Г.И. №1. — С. 3
 №10. — С. 41
 №11. — С. 15
 №12. — С. 3
 Еремина Е.Р. №7—8. — С. 3
 Жанатаева А.К. №9. — С. 11
 Жданкина С.Н. №5. — С. 31
 Железнова М.А. №7—8. — С. 3
 Жиглова И.М. №7—8. — С. 3
 Жуков И.В. №7—8. — С. 3
 Жукова Т.П. №7—8. — С. 3
 Журавлева И.В. №2. — С. 31
 №5. — С. 17
 Жученко Л.А. №6. — С. 3
 №7—8. — С. 3
 Загидуллин Ш.З. №10. — С. 35
 Заикина Ф.Я. №7—8. — С. 3
 Зайцев А.М. №11. — С. 41
 Залетаев Д.В. №3. — С. 32
 №11. — С. 15, С. 41
 Занорина Т.Е. №7—8. — С. 3
 Зарчукова Л.Н. №7—8. — С. 3
 Захарова Е.Ю. №11. — С. 15
 №12. — С. 29
 Зернаева Н.П. №7—8. — С. 3
 Зинченко Р.А. №2. — С. 19
 №9. — С. 37
 №10. — С. 41
 №11. — С. 15
 №12. — С. 3
 Золотухина Т.В. №2. — С. 25
 №12. — С. 22
 Зоркольева И.В. №1. — С. 17
 Зубайдуллина С.Р. №7—8. — С. 3
 Зуева И.А. №7—8. — С. 3
 Зыцарь М.В. №1. — С. 17
 №11. — С. 30
 Иванова Л.Ю. №2. — С. 31
 №5. — С. 17
 Иванюк А.С. №7—8. — С. 3
 Иващенко Т.Э. №3. — С. 28
 Ивченкова Н.П. №7—8. — С. 3
 Ижевская В.Л. №2. — С. 31
 №5. — С. 17
 №6. — С. 3
 №7—8. — С. 3
 Исакеев М.К. №1. — С. 33
 Исакова Ж.Т. №1. — С. 33
 Исакова М.Т. №1. — С. 33
 Кавочкина В.А. №7—8. — С. 3
 Кадочникова В.В. №4. — С. 30
 Кадышев В.В. №10. — С. 41
 №11. — С. 15
 Казанцева В.М. №7—8. — С. 3
 Казенова Д.А. №7—8. — С. 3
 Калашникова Е.А. №6. — С. 3
 №7—8. — С. 3
 Каминная В.И. №10. — С. 29
 Каминный А.И. №10. — С. 29
 Канивец И.В. №12. — С. 22
 Карапетян М.К. №1. — С. 3
 Карпов К.П. №7—8. — С. 3
 Карпукхун А.В. №9. — С. 3
 Карунас А.С. №10. — С. 35
 Касатина Н.М. №7—8. — С. 3
 Касимова О.В. №7—8. — С. 3
 Касьянова Л.В. №7—8. — С. 3
 Кашеварова А.А. №3. — С. 11
 №10. — С. 10
 Кашников В.Н. №5. — С. 31
 Кашеева Т.К. №7—8. — С. 3
 Кекеева Т.Н. №7—8. — С. 3
 Кеня А.Н. №7—8. — С. 3
 Киреева Г.В. №7—8. — С. 3
 Кирсанова О.Н. №11. — С. 41
 Кит О.И. №12. — С. 35
 Климова М.И. №7—8. — С. 3
 Кожевникова Е.А. №7—8. — С. 3
 Кожухов М.А. №7—8. — С. 3
 Козлова Ю.О. №2. — С. 25
 №12. — С. 22
 Кокаровцева С.Н. №7—8. — С. 3
 Колбасин Л.Н. №7—8. — С. 3
 Коленченко Л.В. №7—8. — С. 3
 Колпакова Е.В. №7—8. — С. 3
 Комкова Г.В. №7—8. — С. 3
 Кондрашова Л.Ю. №7—8. — С. 3
 Кононенко Н.И. №7—8. — С. 3
 Кононова С.К. №1. — С. 8
 Кононова М.В. №7—8. — С. 3
 Корзникова Е.А. №7—8. — С. 3
 Корнева В.А. №12. — С. 11
 Корнева Ю.А. №7—8. — С. 3
 Королева Ю.А. №1. — С. 39
 Коростелев С.А. №12. — С. 22
 Коротаева А.А. №10. — С. 29
 Коротеев А.Л. №7—8. — С. 3
 Корф М.П. №7—8. — С. 3
 Костенко Е.Б. №7—8. — С. 3
 Костина О.И. №7—8. — С. 3
 Костырко Э.И. №7—8. — С. 3
 Кофиади И.А. №4. — С. 30
 Кривоносова Н.В. №7—8. — С. 3
 Круглова О.В. №7—8. — С. 3
 №12. — С. 29
 Кудрявцева О.К. №7—8. — С. 3
 Кузнецова Е.Б. №3. — С. 32
 Кузнецова О.П. №7—8. — С. 3
 Кузнецова С.В. №7—8. — С. 3
 Кузьмичева И.А. №7—8. — С. 3
 Курбангалиева Н.В. №7—8. — С. 3
 Курбатова И.В. №12. — С. 11
 Курилова В.И. №7—8. — С. 3
 Куровский А.В. №4. — С. 44
 Куртанов Х.А. №1. — С. 8
 Кутилин Д.С. №12. — С. 35
 Кутовая Е.И. №7—8. — С. 3
 Куцев С.И. №9. — С. 11
 Кучер А.Н. №5. — С. 10, С. 36
 №9. — С. 28
 Лагуева Ф.К. №7—8. — С. 3
 Лазарева Н.И. №7—8. — С. 3
 Лаптева И.А. №7—8. — С. 3
 Латыпов А.Ш. №7—8. — С. 3
 Лебедев И.Н. №1. — С. 39
 №3. — С. 11, С. 19
 №10. — С. 10
 Левашева С.В. №10. — С. 35
 Лепшин М.В. №3. — С. 19
 Лернер Л.А. №7—8. — С. 3
 Лиманская Н.Г. №7—8. — С. 3
 Логунов Н.А. №1. — С. 27
 Лошакова Л.Ю. №4. — С. 35
 Лукина Н.В. №7—8. — С. 3
 Лукьянова Т.В. №7—8. — С. 3
 Лунегова О.С. №1. — С. 33
 Лунина Н.Н. №7—8. — С. 3

Лысенко Д.И.	№7—8. — С. 3	Немова Н.Н.	№12. — С. 11	Пузырев В.П.	№1. — С. 39
Лычак А.В.	№7—8. — С. 3	Немцова Л.Н.	№7—8. — С. 3		№5. — С. 10, С. 36
Магати́на А.Д.	№7—8. — С. 3	Немцова Л.Н.	№8. — С. 3		№9. — С. 28
Магомедова Р.М.	№2. — С. 19	Неустроева А.Б.	№1. — С. 8		№10. — С. 10
Мазилина М.А.	№4. — С. 11	Никитин Я.О.	№1. — С. 27	Пузырев К.В.	№5. — С. 36
Мазунин И.О.	№2. — С. 37	Никитина В.А.	№9. — С. 11		№7—8. — С. 3
Майкова Л.П.	№7—8. — С. 3	Никишина М.В.	№7—8. — С. 3	Пшенникова В.Г.	№1. — С. 8
Макаров С.В.	№1. — С. 3	Николаева Е.Б.	№7—8. — С. 3	Рагимов А.А.	№4. — С. 30
Макеева О.А.	№5. — С. 36	Никонов А.М.	№7—8. — С. 3	Рагожина С.Е.	№4. — С. 39
.	№9. — С. 28	Новик М.А.	№7—8. — С. 3	Рафаилов А.М.	№1. — С. 8
Максименко В.А.	№4. — С. 30	Новикова Е.А.	№7—8. — С. 3	Ржевкина Н.Н.	№7—8. — С. 3
Малинина Т.А.	№7—8. — С. 3	Новикова Л.А.	№7—8. — С. 3	Ример А.И.	№7—8. — С. 3
Малышева И.Е.	№12. — С. 11	Новолоцкая О.А.	№7—8. — С. 3	Романенко О.П.	№7—8. — С. 3
Мальцев А.В.	№2. — С. 8	Новоселов А.Г.	№7—8. — С. 3	Романкова Т.М.	№7—8. — С. 3
Марданова А.К.	№7—8. — С. 3	Нургалиева А.Х.	№4. — С. 3	Руденко В.В.	№3. — С. 32
Марков А.В.	№1. — С. 39		№11. — С. 3	Руденская Г.Е.	№10. — С. 18
.	№10. — С. 10	Одегова Н.О.	№7—8. — С. 3	Рудко А.А.	№7—8. — С. 3
Маркова Ж.Г.	№2. — С. 25	Омзар О.С.	№1. — С. 17	Румянцева Н.Я.	№7—8. — С. 3
.	№12. — С. 22		№11. — С. 30	Рыбаков Е.Г.	№5. — С. 31
Матулевич С.А.	№7—8. — С. 3	Орлов А.В.	№3. — С. 28	Рыжкова А.В.	№4. — С. 39
Машнева Е.Ю.	№7—8. — С. 3	Осипова Е.В.	№7—8. — С. 3	Рыжкова О.П.	№10. — С. 18
Маюн Ю.Л.	№7—8. — С. 3	Осокин А.Е.	№7—8. — С. 3	Рязанова О.А.	№7—8. — С. 3
Мельников В.В.	№7—8. — С. 3	Осыкина П.В.	№7—8. — С. 3	Саваскина Е.Н.	№7—8. — С. 3
Минайчева Л.И.	№4. — С. 44	Павельева О.П.	№7—8. — С. 3	Савченко Я.А.	№4. — С. 39
Минина В.И.	№4. — С. 39	Павленко Н.Е.	№7—8. — С. 3	Саженова Е.А.	№3. — С. 19
Миньженкова М.Е.	№2. — С. 25	Падюкова А.Д.	№4. — С. 35	Самарин А.Е.	№11. — С. 41
.	№12. — С. 22	Панина М.В.	№5. — С. 31	Самойлова Е.В.	№10. — С. 29
Мирошникова И.В.	№7—8. — С. 3	Панина И.А.	№7—8. — С. 3	Самойлова Т.Н.	№7—8. — С. 3
Михайлова Л.К.	№10. — С. 41	Панкова Е.В.	№7—8. — С. 3	Самохвалов В.А.	№7—8. — С. 3
.	№11. — С. 15	Петрин А.Н.	№10. — С. 41	Сангизова В.В.	№7—8. — С. 3
Михальская В.Ю.	№1. — С. 17		№11. — С. 15	Саркисян Т.Ф.	№12. — С. 16
.	№11. — С. 30		№12. — С. 3	Сахарова Ю.С.	№7—8. — С. 3
Михальчук В.В.	№7—8. — С. 3	Петрина Н.Е.	№11. — С. 15	Сахтарьёк З.Н.	№7—8. — С. 3
Можаяева Н.Н.	№7—8. — С. 3	Петрова А.Н.	№7—8. — С. 3	Селютина М.Г.	№7—8. — С. 3
Моисеева Н.В.	№7—8. — С. 3	Петрова Е.Г.	№7—8. — С. 3	Семенова Е.А.	№7—8. — С. 3
Монгуш Р.Ш.	№1. — С. 17	Петрова Н.В.	№10. — С. 41	Семина В.И.	№7—8. — С. 3
.	№11. — С. 30		№11. — С. 15	Сергеев А.С.	№2. — С. 31
Мораш Т.М.	№7—8. — С. 3		№12. — С. 3	Серебренникова Т.Е.	№7—8. — С. 3
Моргулис Н.Б.	№1. — С. 3	Поздеева Т.Ю.	№7—8. — С. 3	Серебрякова О.Б.	№7—8. — С. 3
Морозов И.В.	№11. — С. 30	Полунова Т.Я.	№7—8. — С. 3	Серкова Н.А.	№7—8. — С. 3
Надыршина Д.Д.	№4. — С. 3	Поляков А.В.	№10. — С. 18	Сивицкая Л.Н.	№10. — С. 3
.	№11. — С. 3		№11. — С. 15	Сикора Н.В.	№7—8. — С. 3
Назаренко Л.П.	№4. — С. 44	Попов В.А.	№1. — С. 39	Ситякова Т.А.	№7—8. — С. 3
Назаренко Л.П.	№7—8. — С. 3		№10. — С. 10	Скиданова О.В.	№1. — С. 17
Назаренко М.С.	№1. — С. 39	Поспехова Н.И.	№5. — С. 31		№11. — С. 30
.	№10. — С. 10	Посух О.Л.	№1. — С. 8, С. 17	Скоробогатько О.А.	№7—8. — С. 3
Насыхова Ю.А.	№3. — С. 28		№11. — С. 30	Слепцов А.А.	№1. — С. 39
Некрасова Е.С.	№7—8. — С. 3	Потапова Н.Е.	№7—8. — С. 3		№10. — С. 10
Некрасова Т.М.	№7—8. — С. 3	Прозоренко Е.В.	№11. — С. 41	Собанчеев Е.В.	№1. — С. 27

- Соколова А.И. №7—8. — С. 3
Соловьев А.В. №1. — С. 8
Соловьева Н.А. №1. — С. 8
Солтаева А.М.-Х. №9. — С. 42
Солуянова Л.А. №7—8. — С. 3
Сосницкая С.В. №7—8. — С. 3
Спицын В.А. №1. — С. 3
Стародубова Е.А. №7—8. — С. 3
Стародумова Е.В. №7—8. — С. 3
Степанова А.И. №12. — С. 11
Степанькова Е.А. №7—8. — С. 3
Степнова С.В. №7—8. — С. 3
Стрельников В.В. №3. — С. 32
. №11. — С. 15, С. 41
Стяжкина О.Б. №7—8. — С. 3
Судаков А.Г. №7—8. — С. 3
Судакова Е.В. №7—8. — С. 3
Султанова Р.И. №4. — С. 3
Сушков О.И. №5. — С. 31
Сычева Л.П. №9. — С. 42
Сягин А.А. №7—8. — С. 3
Тадевосян А.Э. №12. — С. 16
Тайзутдинова Л.А. №7—8. — С. 3
Талайбекова Э.Т. №1. — С. 33
Талоллина О.А. №7—8. — С. 3
Танас А.С. №3. — С. 32
. №11. — С. 41
Тарасенко Н.В. №5. — С. 36
Тезикова Т.А. №7—8. — С. 3
Терегулова Л.Е. №7—8. — С. 3
Терютин Ф.М. №1. — С. 8
Тимохина М.В. №7—8. — С. 3
Титов В.А. №4. — С. 39
Титова А.В. №7—8. — С. 3
Ткаченко Л.Н. №7—8. — С. 3
Тогочакова О.К. №7—8. — С. 3
Токтарова О.А. №7—8. — С. 3
Толмачёва Е.Н. №10. — С. 10
Тологонов М.Т. №1. — С. 33
Топчиева Л.В. №12. — С. 11
Тронова С.Г. №2. — С. 3
Трофимов Д.Ю. №4. — С. 30
Тукар В.М. №1. — С. 17
. №11. — С. 30
Тюрин А.В. №9. — С. 18
Тюрина Г.Л. №7—8. — С. 3
Угаров И.В. №2. — С. 19
Умаханова З.Р. №2. — С. 19
Федорова И.А. №7—8. — С. 3
Федорова И.Д. №4. — С. 11
Федорова С.А. №1. — С. 8
Федорова Ю.Ю. №10. — С. 35
Федотов В.П. №7—8. — С. 3
. №10. — С. 18
Федотова Т.В. №7—8. — С. 3
Федотова Э.Е. №1. — С. 8
Фесик О.А. №7—8. — С. 3
Филиппов О.С. №7—8. — С. 3
Филиппова М.О. №7—8. — С. 3
Филиппова О.В. №7—8. — С. 3
Филипчук А.Н. №7—8. — С. 3
Фоминых Т.К. №7—8. — С. 3
Фролов А.В. №1. — С. 39
. №10. — С. 10
Фролов С.А. №5. — С. 31
Хантимерова Э.Ф. №10. — С. 35
Харитонов Я.В. №7—8. — С. 3
Хасанова З.Х. №10. — С. 29
Хидиятова И.И. №9. — С. 37
Хидиятова И.М. №9. — С. 37
Хлебникова О.В. №10. — С. 41
. №11. — С. 15
Хмелева Е.Ф. №7—8. — С. 3
Храмынина С.С. №7—8. — С. 3
Хромова Е.Ю. №7—8. — С. 3
Хусаинова Р.И. №2. — С. 8
. №4. — С. 3, С. 20
. №9. — С. 18
Хуснутдинова Н.Н. №9. — С. 18
Хуснутдинова Э.К. №1. — С. 8
. №2. — С. 8
. №4. — С. 3, С. 20
. №5. — С. 25
. №9. — С. 18, С. 37
. №10. — С. 35
. №11. — С. 3
Цветкова Т.Г. №7—8. — С. 3
Цуканов А.С. №5. — С. 31
Цыганкова П.Г. №12. — С. 29
Цымбалова И.П. №7—8. — С. 3
Чаушева А.И. №9. — С. 11
Чекрий О.В. №7—8. — С. 3
Черменский А.Г. №3. — С. 28
Чернякина О.Ф. №7—8. — С. 3
Чильгашева О.В. №7—8. — С. 3
Чунихина Л.П. №7—8. — С. 3
Шаймарданова Э.Х. №11. — С. 3
Шальнев В.В. №7—8. — С. 3
Шамакова М.Б. №7—8. — С. 3
Шаманская Е.Ф. №7—8. — С. 3
Шаропалова И.А. №7—8. — С. 3
Шарапова Г.Ш. №7—8. — С. 3
Шведун Е.В. №7—8. — С. 3
Шевченко Е.А. №7—8. — С. 3
Шелкова Е.В. №7—8. — С. 3
Шельгин Ю.А. №5. — С. 31
Шершнева К.А. №7—8. — С. 3
Шилова Н.В. №2. — С. 25
. №12. — С. 22
Шильникова Е.М. №4. — С. 11
Шипачева О.М. №7—8. — С. 3
Шипулин В.М. №5. — С. 36
. №9. — С. 28
Шокарев Р.А. №7—8. — С. 3
Шубин В.П. №5. — С. 31
Шувалова Ю.А. №10. — С. 29
Шумаков С.Ю. №7—8. — С. 3
Шумская Е.И. №7—8. — С. 3
Шушарина-Левун О.Ю. №7—8. — С. 3
Эткина Э.И. №10. — С. 35
Юдина Е.В. №6. — С. 3
. №7—8. — С. 3
Юдинцева Т.В. №7—8. — С. 3
Юмтарова З.А. №7—8. — С. 3
Юферева Е.В. №7—8. — С. 3
Якубовский Г.И. №7—8. — С. 3

Правила оформления статей в журнале «Медицинская генетика»

Настоящие правила являются приложением к договору публичной оферты, размещённому на сайте www.med-gen.ru, в разделе «Журнал «Медицинская генетика».

«Медицинская генетика» — ежемесячный рецензируемый научно-практический журнал, публикующий результаты исследований отечественных и зарубежных учёных по современным проблемам генетики человека и медицинской генетики. К публикации принимаются ранее не опубликованные работы по профилю журнала: теоретические и обзорные статьи, результаты завершённых оригинальных исследований, краткие сообщения, описания клинических случаев, рецензии на книги, комментарии читателей к ранее опубликованным статьям и письма к редактору, информация о научных мероприятиях. Не принимаются к печати статьи, представляющие собой отдельные этапы незавершённых исследований, а также статьи, посвящённые исследованиям, выполненным с нарушением этических норм и правил и норм гуманного обращения с биообъектами. Решение о публикации принимается редколлегией журнала после рецензирования рукописи с учётом научной значимости и актуальности представленных материалов. При рассмотрении полученных авторских материалов редакционная коллегия руководствуется «Едиными требованиями к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы» (www.ICMJE.org). Статьи, отклонённые редакционной коллегией, повторно не принимаются и не рассматриваются.

Статья должна быть написана на русском языке, представлена в одном печатном экземпляре в формате любой версии текстового редактора Microsoft Word for Windows и прислана в электронном виде на e-mail редакции. Статья должна сопровождаться направлением (сопроводительным письмом) от учреждения, где была выполнена научная работа, в котором должны быть отражены:

- информация о предшествовавших или повторных публикациях или о представлении в другой журнал любой части этой работы;
- заявление о финансовых или других взаимоотношениях, которые могут привести к «конфликту интересов»;
- заявление о том, что статья прочитана и одобрена всеми авторами, все требования к авторству соблюдены и все авторы уверены, что рукопись отражает действительно проделанную работу;
- заявление, что рукопись не содержит сведений, не подлежащих к опубликованию в открытой печати;

- указание на наличие письменных информированных согласий от пациентов на участие в исследовании и/или на публикацию информации о них, включая фотোগрафии;

- указание на одобрение исследования локальным или центральным этическим комитетом.

В конце статьи должны быть подписи всех авторов и полностью указаны фамилия, имя, отчество, полный почтовый адрес, номер телефона, адрес электронной почты автора, осуществляющего связь с редакцией. Материалы, не отвечающие этим требованиям, не принимаются.

Печатать следует на одной стороне листа формата А4 через 2 интервала, шрифтом Times Roman, 12 пунктов без переносов и выравнивания по правому краю. Все поля страницы должны быть не менее 25 мм. Нумерация страниц, включая первую, приводится внизу по центру. Общий объём рукописи, включая аннотации на русском и английском языках, список литературы, таблицы, рисунки и подписи под рисунками, не должен превышать для оригинальных статей 16 страниц, для обзорных и теоретических — 32 страницы, для кратких сообщений — 8 страниц. Число таблиц и число рисунков не должно быть более пяти, за исключением особых случаев, одобренных редколлегией журнала. Размеры рисунков и таблиц не должны превышать одной страницы формата А4. Статьи большего объёма могут быть опубликованы в исключительных случаях по решению редакционной коллегии.

Структура статьи:

1. Название статьи, напечатанное строчными буквами без разрядки и выделения;
2. Фамилия(и) и инициалы автора(ов);
3. Место работы автора(ов): полное название учреждения (аббревиатуры недопустимы), город, почтовый адрес с индексом, адрес электронной почты (отметить арабскими цифрами соответствие авторов учреждениям, в которых они работают);
4. Аннотация (объёмом не более 0,5 стр.);
5. Ключевые слова (не более 5);
6. Экспериментальные оригинальные статьи должны иметь разделы: введение, материалы и методы, результаты, обсуждение. Два последних раздела могут быть объединены;

7. Теоретические и обзорные статьи могут иметь иные подразделы.

8. Краткие сообщения печатаются без подразделения на части.

9. В завершение рукописи в обязательном порядке должны быть упомянуты все лица и организации, оказавшие финансовую поддержку исследованию (в виде грантов, дарения или предоставления оборудования, реактивов, расходных материалов, лекарств или всего этого вместе), а также принявшие другое финансовое или личное участие, которое может привести к конфликту интересов, или декларировано отсутствие у авторов конфликта интересов.

10. В конце текста статьи могут быть выражены признательность отдельным лицам и (или) научным или иным фондам и организациям, оказавшим помощь в выполнении работы;

11. После текста статьи приводится список литературы;

12. Каждая таблица печатается на отдельной странице;

13. На отдельной странице приводятся подписи к рисункам, с указанием названия статьи и авторов;

14. По-английски на отдельной странице печатаются название статьи, фамилия (фамилии) и инициалы автора (авторов), название учреждения, его адрес, включая адрес электронной почты, перевод аннотации статьи (не более 0,5 стр.), ключевые слова (не более 5).

Названия разделов печатаются заглавными буквами на отдельной строке. Подзаголовки внутри разделов также печатаются на отдельной строке. На левом поле по тексту статьи указываются места расположения рисунков и таблиц. Сложные математические формулы печатаются на отдельной строке (следует использовать редактор формул, встроенный в текстовый редактор Word). Формулы нумеруются справа в круглых скобках в случае ссылок на них по ходу текста статьи

Данные рисунков не должны повторять материалы таблиц. Рисунки должны быть чёткими с минимальным количеством обозначений. Детали на рисунках обозначаются арабскими цифрами либо русскими буквами, которые расшифровываются в подписочных подписях. В подписях к микрофотографиям необходимо указать метод окраски, если препарат окрашен, и увеличение.

Электронная версия рисунков, схем, фотографий должна быть представлена в точечных форматах tiff, jpeg или gif (300—600 dpi) или в векторных форматах Adobe Illustrator (ai, eps), Corel Draw (cdr). Файлы с иллюстрациями должны быть названы таким образом, чтобы было понятно, к какой статье они принадлежат и каким по порядку является рисунок.

Цитируемая литература (не более 25 для оригинальных работ и не более 50 для обзорных статей) приводится в алфавитном порядке (вначале на русском языке). **Не допускаются ссылки на неопубликованные работы,**

материалы конференций, диссертации (можно указывать в качестве источника автореферат диссертации). В тексте номер ссылки заключён в квадратные скобки и соответствует нумерации в списке литературы.

Ссылка на публикацию в периодическом издании должна содержать фамилии и инициалы авторов, название статьи, название журнала, год, том, номер и страницы.

Примеры оформления ссылок:

Сурин В.Л. Лабораторная диагностика острой перемежающейся порфирии // *Генетика*. — 2001. — Т. 2, №5. — С. 690—697.

Gu X.K. The porphyrias: recent advances // *Clin. Chem.* — 1986. — Vol. 32, №3. — P. 1255—1265.

В случае цитирования книг, монографий ссылка содержит фамилию и инициалы автора, название, место издания, название издательства, год издания, число страниц. Пример оформления ссылки:

Кадурина Т.И. Наследственные коллагенопатии (клиника, диагностика, лечение и диспансеризация). — СПб.: *Невский Диалект*, 2000. — 271 с.

Ссылка на материалы авторефератов диссертаций:

Котлукова Н.П. Кардиоваскулярная патология у новорожденных и детей раннего возраста: Автореф. дисс. на соискание учёной степени д.м.н. — М., 2001. — 57 с.

Рецензирование статьи осуществляется в соответствии с утверждёнными правилами, с которыми можно ознакомиться на сайте www.med-gen.ru.

Редакция оставляет за собой право редактировать текст при обнаружении технических или смысловых дефектов либо возвращать статью автору для исправления.

Датой поступления статьи считается день получения редакцией окончательного текста.

Отклонённые статьи не возвращаются.

Авторский гонорар не выплачивается.

Все статьи, в том числе статьи аспирантов и докторантов, публикуются бесплатно.

В случае обнаружения ошибок или опечаток в ранее опубликованных статьях журнал публикует в одном из последующих номеров на отдельной странице перечень ошибок и опечаток с цитированием оригинального текста статьи и со ссылкой на статью. При этом в оглавление номера включается раздел «Исправления». В случае выявления недостоверных данных в уже опубликованной статье редакция журнала публикует опровержение. Опровержение (как и редакторское мнение) помещается в журнале на отдельной странице и включается в оглавление. В тексте опровержения редактор приводит доказательства недостоверности данных, опубликованных в статье, и приводит все необходимые цитаты.

Статьи следует направлять по адресу:
115478, Москва, ул.Москворечье, 1,
Медико-генетический научный центр РАМН,
редакция журнала «Медицинская генетика».

Электронный вариант статьи следует направлять на электронный адрес редакции **L_Tarlycheva@med-gen.ru**.