

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 молекулярной 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

СЕРЕДИНИН 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 редакцией журнала «Медицинская генетика» обязательно. За содержание рекламных публикаций ответственность несет рекламодатель.

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

Тираж 900 экз.

Медицинская ГЕНЕТИКА

Ежемесячный рецензируемый научно-практический журнал

2015 г. Том 14. №2 (152)

СОДЕРЖАНИЕ

Тезисы

VII Съезда

Российского общества медицинских генетиков,
Санкт-Петербург, 19—23 мая 2015 г.

и

3-й Всероссийской конференции с международным участием

«Генетика опухолей кроветворной системы»,
Санкт-Петербург, 19—20 мая 2015 г.

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

2015. Volume 14. №2 (152)

CONTENT

**The VII Congress
of the Russian Society of Medical Geneticists,
St.Petersburg, May 19—23, 2015**

**The 3-rd Russian Conference
with international Participation
«The Genetics of Blood System Tumors»
St.Petersburg, May 19—20, 2015**

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

**Эпигенетическая модификация
острой воспалительной боли**

*Абзианидзе Е.В.¹, Кварацхелия Е.Б.¹, Ткемаладзе Т.Т.¹,
Гурцкая Г.П.², Циклаури Н.Д.², Цагарели М.Г.²*

¹ ТГМУ, Департамент молекулярной и медицинской генетики

² Центр экспериментальной биомедицины им. И. Бериташвили,
лаборатория боли и анальгезии

Острая боль ассоциируется с повреждением ткани, вследствие которого происходит выделение воспалительных медиаторов. Исследования последних лет выявили участие эпигенетических механизмов (таких, как метилирование ДНК) в процессе развития боли. Целью настоящего исследования является изучение изменения ДНК-метилтрансфераз (DNMT1, DNMT3a и DNMT3b) в ядерных экстрактах тригеминальных нейронов крыс в модели острой боли и при предварительной инъекции нестероидных противовоспалительных препаратов (НСПВП).

Все исследования на животных были проведены в соответствии с Руководством Международной Ассоциации по изучению боли. Для активации болевых рецепторов наносили 10%-ное горчичное масло или капсаицин (0,6%) (Sigma-Aldrich, USA) на передней дорсальной области языка у четырёхмесячных крыс мужского пола; после 15—20 мин измерялись ответы на механические стимулы. Уровни DNMT1, DNMT3a и DNMT3b измерялись в ядерных экстрактах тригеминальных нейронов через 2—3 ч после активации ноцицепторов и при предварительной внутрибрюшинной инъекции НСПВП (ксефокам, клонидин, кеторолак) на фоне болевого воздействия. Для измерения уровня ДНК-метилтрансфераз были использованы наборы для анализа активности DNMTs (Abcam Inc).

Аппликация 10%-ного горчичного масла вызывает острую боль у крыс при которой повышается уровень DNMT3a и 3b, тогда как DNMT1 секрета существенно не менялась по сравнению контрольных животных. При острой боли вызванной аппликацией капсаицина повышался уровень DNMT3a, DNMT3b, так же как уровень DNMT1. При предварительной инъекции НСПВП, отмечалось значительное снижение активности DNMT3a и DNMT3b на фоне применения как горчичного масла, так и капсаицина по сравнению с контрольной группой крыс. Уровень DNMT1 существенно не менялся.

Полученные данные указывают на то что нестероидные противовоспалительные препараты, возможно, действуют как эпигенетические регуляторные агенты путём изменения активности воспалительных медиаторов, участвующих в развитии острой боли.

**Спонтанные герминальные
и соматические мутации:
механизмы, паттерны,
влияние факторов среды**

Абилев С.К., Сальникова Л.Е.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова

Российской академии наук,
119991, ГСП-1, Москва, ул. Губкина, д. 3.

E-mail: abilev@vigg.ru

Рассмотрены частоты, паттерны и механизмы возникновения спонтанных герминальных и соматических мутаций у человека. Частота *de novo* спонтанных мутаций оценивается цифрой 63,2; частота возникновения $1,2 \times 10^{-8}$ на нуклеотид. Частота транзиций в последовательностях CpG в 10 раз превышает среднюю частоту по геному и составляет $1,12 \times 10^{-7}$, что, предположительно, связано с частым метилированием и последующим дезаминированием цитозина в данном контексте. Среди факторов, оказывающих сильное влияние на частоту возникновения спонтанных мутаций у человека, возраст отца является одним из самых значимых. Количество репликаций ДНК в половых клетках мужчин возрастает от 35 в возрасте 15 лет до 610 в возрасте 40 лет. Число мутаций, индуцированных в половых клетках дозой острого облучения 1 Гр и число спонтанных герминальных мутаций у 40-летнего мужчины, практически одинаково. Число спонтанных мутаций в половых клетках женщин от возраста не зависит.

Частоты и паттерны соматических мутаций сильно варьируют для разных типов опухолей. По результатам полногеномного секвенирования 30 различных типов опухолей, наименьшая частота соматических мутаций регистрируется в педиатрических опухолях, наибольшая в опухолях, ассоциированных с хроническим воздействием мутагенов: в лёгких (курение) и меланоме (УФ). Изучение мутационных сигнатур в опухолях показало, что сигнатуры могут быть специфичны относительно возраста, типа опухоли, воздействия мутагенов (УФ, табакокурения, алкилирующих агентов, вирусов и ретротранспозонов). Наибольшая частота функционально значимых мутаций регистрируется в гене *TP53*. Мутации в гене *TP53* характеризуются большим функциональным разнообразием. Для ряда опухолей отмечены канцерспецифические горячие точки *TP53* мутаций, наибольшее число типичных миссенс-мутаций известно для немелкоклеточного рака лёгкого.

Роль цитогенетических исследований в диагностике опухолевых заболеваний системы крови

**Абильдинова Г.Ж., Камалиева Б.О.,
Баянова М.Ф., Жумажанова Д.К.**

Научный центр материнства и детства, г.Астана,
Республика Казахстан, labgen-astana@mail.ru

Признание клонового происхождения лейкозов обусловило интерес к изучению формирования цитогенетически маркированных клонов при развитии лейкозного процесса. В связи с этим важное значение приобретает исследование хромосомных нарушений до клинической манифестации лейкозов — при предлейкозных состояниях, при развитии вторичных, посттерапевтических лейкозов, на разных стадиях острого и хронического лейкоза.

Материалом исследования были клетки костного мозга 1181 пациентов с острым и хроническим лейкозом. Культивирование клеток костного мозга проводили с добавлением среды для культивирования, применяли стандартный метод с модификациями (24 и 48 часовые культуры). Применяли стандартный цитогенетический анализ, окрашивание хромосом G-бандинг и молекулярно-цитогенетический метод FISH-анализ с использованием специфических зондов.

Цитогенетическое исследование бластных клеток проведено 526 детям, средний возраст составил $7,7 \pm 4,7$ года, из них 46 детей до одного года, средний возраст $7,2 \pm 4,5$ мес. Преимущественно болели мальчики — 265 случаев. В 80% случаев диагностировали острый лимфобластный лейкоз и 20% — острый миелоидный лейкоз.

При цитогенетическом исследовании 616 чел. взрослого населения были диагностированы в 194 случаях острые лейкозы и в 299 случаях хронические формы лейкоза. Средний возраст составил $41,3 \pm 14,9$ года. Среди пациентов с хроническим миелолейкозом 15% получают препарат Нилотиниб, ингибитор тирозинкиназ, который специфически блокирует активность онкобелка BCR-ABL.

Выявлены аномалии хромосом, характерные для острого и хронического форм лейкозов: гипер- и гиподиплоидные клоны, трисомии и делеции в определённых хромосомных парах (4, 6, 10, 14, 17, 18, 21), специфические транслокации, делеции хромосом.

Исследование мутаций и полиморфизмов в гене SCN1A при идиопатических формах эпилепсии

**Абрамов А.А.¹, Кожанова Т.В.¹, Жилина С.С.^{1,2},
Айвазян С.О.¹, Ананьева Т.В.¹, Мещерякова Т.И.¹,
Брюханова Н.О.^{1,2}, Зинченко Р.А.^{1,2,3}, Мутовин Г.Р.^{1,2,3}**

¹ ФГУЗ «Научно-практический центр медицинской помощи детям ДЗМ», 119620, Москва, ул. Авиаторов, д. 38.
E-mail: a.petrin@mail.ru

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

³ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», 115478, Москва, ул. Москворечье, д.1

Цель исследования — поиск мутаций и изучение полиморфизмов в гене *SCN1A* у больных идиопатическими формами эпилепсии (ИФЭ).

Исследование гена *SCN1A* проведено у 45 детей с ИФЭ. Для анализа выбраны 20 экзонов гена *SCN1A*, в которых сосредоточены до 80% от всех известных мутаций. Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови методом фенол-хлороформной экстракции. Для поиска мутаций в экзонах и прилегающих интронных последовательностях гена *SCN1A* была проведена ПЦР. Прочтение нуклеотидной последовательности выполнено на генетическом анализаторе Applied Bio-

systems 3500xl Genetic Analyzer. Анализ полученных данных и сравнение полученных сиквенограмм с референсными последовательностями проводили с использованием программ Sequencing Analysis (Applied Biosystems), Seqman (Lasergene DNAsar) и Mega 5.2.

При анализе кодирующих областей гена *SCN1A* у 45 пациентов выявлено 5 мутаций: миссенс-мутации — с.3022G>T (16 экзон), с.1144G>T (8 экзон), с.80G>C (1 экзон), с.3604C>T (18 экзон) и «молчащий» полиморфизм — с.1131A>C (8 экзон). В случае обнаружения мутаций с.80G>C (пациент 1) и с.3604C>T (пациент 2) нам был доступен материал на исследование от обоих родителей. Анализ экзона 1 у родителей пациента 1 показал наличие мутации с.80G>C у матери. Анализ экзона 18 у родителей пациента 2 с мутацией с.3604C>T, не выявил у них аналогичных изменений. При анализе полиморфизмов гена *SCN1A*, как возможных кандидатов на роль маркеров генетической предрасположенности к ИФЭ и фармакорезистентности к противоэпилептическим препаратам, был определён аллельный статус следующих полиморфизмов: в кодирующих регионах — с. 3199G>A, с.1212A>G и прилегающих интронных областях — IVS4-106G>T, IVS4-242T>C, IVS4-91G>A, IVS9+52G>A, IVS2+66T>C, IVS18+33 и IVS18+55. Наибольший интерес представляет миссенс-полиморфизм с.3199G>A, так как он приводит к замене аминокислоты в белке.

DUP/AMP1q21 при множественной миеломе

**Абрамова Т.В., Гребёнюк Л.А., Покровская О.С.,
Обухова Т.Н., Менделеева Л.П.**

ФГБУ Гематологический научный центр МЗ РФ,
Россия, Москва, Новый Зыковский пр-д, 4
abramova.blood@gmail.com

Множественная миелома (ММ) — гетерогенное заболевание с многоступенчатым механизмом опухолевой трансформации. Выделяют первичные патогенетические хромосомные аберрации — t(IgH)/14q32 с локусами различных генов и множественные трисомии — и вторичные, связанные с прогрессией опухоли, del(13q14), del(17p13)/p53, t(8q24)/c-MYC, dup/amp(1q21) и др. dup/amp(1q21) при ММ наименее изучена: частота её встречаемости в разных исследованиях варьирует в широких пределах, а данные о её прогностическом значении противоречивы. С 2014 г. в ФГБУ ГНЦ с целью определения частоты встречаемости dup/amp(1q21) и её сочетания с другими первичными и вторичными хромосомными аномалиями 38 больных ММ, 19 мужчинам и 19 женщинам в возрасте от 36 до 78 лет (средний возраст — 59 лет), до начала цитостатической терапии выполнено FISH-исследование CD138+ клеток костного мозга для выявления t(14q32)/IgH, t(11;14), t(4;14), t(14;16), del(13q14), del(17p13) и dup/amp(1q21). Хромосомные аномалии выявлены у 28 больных (74%). t(14q32)/IgH выявлены у 14 больных (37%): в шести случаях (16%) — t(11;14), в четырёх (10%) — t(4;14), в одном — t(14;16), у трёх больных (8%) хромосомный партнёр не установлен. del(13q14) выявлена у 13 пациентов (34%); del(17p13) — у 4 (11%). dup/amp(1q21) обнаружена у 18 больных (47%): в 14 случаях выявлен 1 дополнительный сигнал от локуса 1q21 (дупликация), в остальных 2-5 дополнительных сигнала (три-, амплификация). В двух случаях dup/amp(1q21) сочеталась с t(11;14), в одном — с t(4;14), в одном — с t(14;16), в шести — с del(13q14), в четырёх — с del(17p13). У 31 больного достигнута очень хорошая частичная ремиссия на бортезомиб-содержащих курсах ПХТ, у пяти больных — частичная ремиссия. У одного больного с выявленной amp(1q21) в сочетании с прогностически неблагоприятной del(17p13) через 6 мес. от начала ПХТ был диагностирован острый плазмобластный лейкоз. У одной больной с amp(1q21) в сочетании с благоприятной в прогностическом плане t(11;14) и отсутствием цитогенетических факторов плохого прогноза

через 4 мес. от установления диагноза и начала ПХТ диагностирована экстрамедуллярная плазмоцитома с вовлечением ЦНС, и она погибла от прогрессии заболевания. Дальнейшее наблюдение за пациентами данной группы и выполнение детального FISH-исследования у большего количества больных на момент установления диагноза и в рецидиве заболевания позволит оценить независимое прогностическое значение $\text{dup}/\text{amp}(1\text{q}21)$.

Особенности мутационного профиля гена *GBA* при болезни Паркинсона в российской популяции

Абрамычева Н.Ю.*, Федотова Е.Ю., Степанова М.С., Иванова-Смоленская И.А. Иллариошкин С.Н.

ФГБНУ «Научный центр неврологии»,
125367, Москва, Волоколамское ш., 80
* nataabr@rambler.ru

Мутации в гене *GBA* в гомозиготном состоянии приводят к недостаточности фермента глюкоцереброзидазы, вызывая развитие аутосомно-рецессивной формы лизосомной болезни накопления — болезни Гоше, тогда как гетерозиготные мутации *GBA* являются доказанным фактором риска развития болезни Паркинсона (БП) и деменции с тельцами Леви. В российской популяции мутационный скрининг гена *GBA* у пациентов с БП не проводился, были лишь единичные работы по анализу частоты встречаемости мажорных мутаций.

Обследованы 424 пациента, страдающих спорадической и семейной формами БП. Группа контроля состояла из 397 клинически здоровых лиц. У 192 пациентов с БП и 197 лиц контрольной группы был проведен мутационный скрининг секвенированием всех 11 экзонов гена *GBA*, остальные 232 образца ДНК пациентов с БП и 200 контрольных образцов типированы только по двум мажорным мутациям в гене *GBA* — N370S и L444P.

Проведенный поиск двух мажорных мутаций в гене *GBA* выявил 18/424 (4,3%) случаев носительства в группе больных с БП и 2/397 (0,5%) в группе контроля ($\text{OR} = 8,59$, 95% CI 1,99–37,13; $p = 0,0006$), что соответствует частоте встречаемости этих мутаций в других популяциях. Мутация N370S была установлена у 10/424 (2,4%) пациентов с БП, и в одном случае в контроле ($\text{OR} = 9,5$, 95% CI 1,21–74,09; $p = 0,01$). Вторая мутация, L444P, была выявлена в восьми случаях БП и в одном случае в контроле, частота встречаемости 1,9% ($\text{OR} = 7,6$, 95% CI 0,94–60,67; $p = 0,02$).

Секвенирование всех 11 экзонов *GBA* на 192 образцах ДНК пациентов с БП позволило выявить дополнительно ещё 6 мутаций. Две из них, E326K и T369M, упоминаются в литературе как непатогенные полиморфизмы для пациентов с болезнью Гоше, но значимо ассоциированы с БП. Встречаемость мутации T369M у пациентов с БП составила 6,8% (13/192) и 1,5% (3/197) в контроле ($\text{OR} = 3,69$, 95% CI 1,2–11,31; $p = 0,01$). Частота встречаемости мутации E326K была в два раза выше для пациентов с БП по сравнению с контрольной группой. Ещё четыре варианта встречались в нашей выборке пациентов с БП только один раз и не были идентифицированы в контроле. Две из них (E388K, R496H) ранее были описаны у пациентов с БП в других популяциях, две другие (L94V, G(-12)X) найдены нами впервые и локализованы за пределами экзонов 8–11, в которых находится большинство известных мутаций. Программами SIFT и PolyPhen2 мутация L94V была оценена как толерантная, а G(-12)X — как повреждающая. Суммарная частота встречаемости мутаций в гене *GBA* у российских пациентов с БП составила 18% (5% для контрольной группы).

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

Биобанк коренных народов Крыма как основа реконструкции этногенеза, по данным анализа трёх генетических систем маркёров

Агджоян А.Т.^{1,2}, Кузнецова М.А.^{2,1}, Чухряева М.И.^{1,2}, Беликова А.В.¹, Запорожченко В.В.², Атраментова Л.А.³, Виллемс Р.⁴, Балановская Е.В.²

¹ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, 119991, Москва, ул. Губкина, 3

² ФГБУН Медико-генетический научный центр, 115478, Москва, ул. Москворечье, 1

³ Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, Харьков, Украина

⁴ Эстонский биоцентр, 51010, Эстония, Тарту, Рийа 236 aagdzhoyan@gmail.com

Биобанки, обеспечивающие изучение генофондов народов, сформировавшихся в регионах с многовековыми интенсивными миграционными процессами, становятся основой для междисциплинарных исследований и уникальным источником информации для этнологов и историков при уточнении путей формирования разных этнических групп. Популяционно-генетические исследования способны быть прочным «связующим звеном» между биологическими науками и рядом гуманитарных дисциплин.

Проведено исследование генофонда одного из таких регионов — Крыма. Коллекция образцов ДНК она включила 406 неродственных между собой мужчин — представителей трёх субэтносов крымских татар (степного, горного и южнобережного) и двух субэтносов крымских греков (ромеев и урумов), предки которых на глубину трёх поколений относились к соответствующей субэтнической группе.

На основе биобанка проведено изучение как однородительских маркёров (SNP- и STR-маркёры Y-хромосомы, полные сиквенсы, SNP-маркёры и сиквенсы ГВС1,2 мтДНК), так и «широкогономной» панели аутосомных маркёров.

Результаты анализа всех трёх генетических систем для всех субэтносов крымских татар и греков в контексте генофонда Евразии выявили сходные закономерности. Наибольший вклад средиземноморского генетического компонента выявлен в генофонде горных и южнобережных крымских татар и обеих групп крымских греков; вклад компонента евразийской степи — в генофонде степных крымских татар. Все субэтносы крымских татар и греков при этом генетически далеки от ближайших соседей — украинцев и русских.

Работа поддержана грантами РФФИ (№13-06-00670_а, №13-04-01711_а) и Программой Президиума РАН «Динамика и сохранение генофондов».

Особенности клинических проявлений фенилкетонурии при генотипе R261X/E178G: описание клинического случая

Агладзе Д.^{1,2}, Маргвелашвили Л.^{1,2}, Келивидзе О.²

¹ Клиника «Ахали Сицоцхле», Тбилиси, Грузия

² Грузинский Фонд редких и генетических заболеваний, Тбилиси, Грузия

В рамках государственной программы неонатального скрининга фенилкетонурии (ФКУ) было проведено изучение особенностей клинического течения заболевания у пациента с редким генотипом R261X/E178G гена *PAH*.

В образце крови, взятом при рождении, показатель фенилаланина составлял 4,1 мг% (при норме <3,2 мг%), повторное исследование через 10 дней продемонстрировало повышение данного показателя до 4,9 мг%, отмечалась положительная проба

Фелинга. Пациенту была назначена диетотерапия, он был включен в бесплатную государственную программу по лечению детей, больных ФКУ, и получал специальный аминокислотный комплекс на протяжении 1,8 года. В течение этого времени он находился под клинико-лабораторным наблюдением, включающим исследование общего анализа крови, общего анализа мочи, ЭЭГ, нейросоноскопию, определение концентрации общего белка, альбумина, фенилаланина, консультации психолога. Показатель фенилаланина в его крови в среднем составлял 5,2 мг%, достигая максимального значения в 10,1 мг% лишь раз.

Про проведении молекулярной диагностики выявлены следующие мутации в гене фенилгидроксиклазы: у пациента и его сестры — R261X (Arg261Term.c.781C>T) и E178G (Glu178Gly.c.533A>G) в компаунд-гетерозиготном состоянии. У матери обнаружена мутация R261X в гетерозиготном состоянии; у отца — E178G в гетерозиготном состоянии.

Учитывая удовлетворительные результаты клинико-лабораторного контроля, пациенту в возрасте 1,8 года аминокислотный комплекс в его рационе был отменён, на сегодняшний день ему показана лишь лёгкая диетотерапия. Из рациона исключены, или же присутствуют в малом количестве, мясо и молочные продукты. При этом овощи и фрукты употребляются без ограничений. Примечательно, что на фоне погрешности в диете у пациента в крови значительного повышения уровня фенилаланина не отмечалось — в течение полугодового наблюдения данный показатель продолжал колебаться в пределах 5–6 мг%, лишь однажды достигнув максимального значения в 8,2 мг%. Все остальные вышеуказанные лабораторные показатели остаются в пределах нормы, интеллектуальное развитие также соответствует возрастной норме.

Представленное нами сообщение является примером того, что в ряде случаев можно отказаться от строгой диетотерапии с применением аминокислотного комплекса. Вместе с тем, данный пациент, как и другие подобные, требует дальнейшего динамического наблюдения.

Определение уровня BCR-ABL у пациентов с хроническим миелоидным лейкозом автоматизированным методом в сравнении со стандартизированной количественной ПЦР в реальном времени

Адилгереева Э.П.^{1,*}, Смирнихина С.А.¹, Цаур Г.А.², Челышева Е.Ю.³, Яковлева Ю.А.², Лавров А.В.^{1,4}, Абдуллаев А.О.³, Шухов О.А.³, Фечина Л.Г.², Туркина А.Г.³, Куцев С.И.^{1,4}

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

² ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница №1», 620149? г.Екатеринбург ул. С. Дерябиной, 32

³ ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, 125167, Москва, Новый Зыковский пр-д, д. 4

⁴ ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1

* laloka88@mail.ru

Определение уровня экспрессии гена *BCR-ABL* в периферической крови больных хроническим миелоидным лейкозом (ХМЛ) — наиболее чувствительный метод оценки эффективности терапии ингибиторами тирозинкиназ (ИТК) и глубины ремиссии заболевания. По требованиям ELN, определение *BCR-ABL* необходимо проводить в стандартизованных лабораториях, получивших конверсионный фактор для приведения полученных результатов в единую международную шкалу молекулярного ответа (МО). Сложности с получением конверсионного фактора и фундаментальные ограничения воспроизводимости результатов ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) заставляют искать другие пути стандартизации молекулярной

диагностики. Платформа GeneXpert® Dx System («Cepheid», США) позволяет проводить определение *BCR-ABL* полностью автоматически с выдачей результата по международной шкале.

Цель данной работы — оценка сопоставимости результатов определения уровня экспрессии *BCR-ABL* автоматизированным (GeneXpert) и стандартным (ПЦР-РВ) методами у пациентов с ХМЛ, получающих терапию ИТК и достигших МО.

В исследование включено 46 пациентов с подтверждённым диагнозом Ph-позитивного ХМЛ и получающих терапию ИТК. Экспрессия *BCR-ABL* обоими методами выявлена в 20 образцах, только GeneXpert — в восьми случаях, только ПЦР-РВ — в четырех случаях и ещё у 14 пациентов оба метода согласованно не выявили экспрессии *BCR-ABL*.

Сравнительный анализ полученных обоими методами результатов по методу Бланда—Альтмана показал высокую сопоставимость результатов: величина диапазона 95% границы согласия составила 0,037, а 44 (95,6%) из 46 образцов находились внутри этой границы. В 12 случаях GeneXpert показал более высокую чувствительность по сравнению с ПЦР-РВ.

Сопоставимость результатов, полученных обоими методами у пациентов с ХМЛ, достигших МО, и более высокая чувствительность GeneXpert позволяют использовать автоматический метод для определения остаточной экспрессии *BCR-ABL*.

Мышечная дистрофия Эмери—Дрейфуса: клиничко-генетическая гетерогенность и ДНК-диагностика

Адян Т.А.^{1*}, Руденская Г.Е.¹, Дадали Е.Л.¹, Грознова О.С.², Влодавец Д.В.², Рыжкова О.П.¹, Поляков А.В.¹

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

* tagui.adyan@yandex.ru

² НИКИ педиатрии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова МЗ РФ, Москва, 125412, ул. Талдомская, 2

Мышечные дистрофии Эмери—Дрейфуса (МД ЭД) — клинически и генетически гетерогенная группа наследственных заболеваний, характеризующихся триадой типичных симптомов: первичными контрактурами локтевых и голеностопных суставов, возникающими в раннем детстве, медленно прогрессирующей мышечной слабостью лопаточно-плечевой и тазово-перонеальной групп мышц и выраженной кардиомиопатией (КМП) с нарушениями ритма и внутрисердечной проводимости. К настоящему времени описано семь генетических вариантов МД ЭД с различными типами наследования: X-сцепленным, аутосомно-доминантным и аутосомно-рецессивным, однако более чем у 60% больных с фенотипом МД ЭД мутации в этих генах не находят. В группе 104 неродственных семей с подозрением на МД ЭД проведен поиск мутаций трёх основных генов *EMD*, *LMNA* и *FHL1*, связанных с МД ЭД типов 1, 2 и 6 соответственно. Мутации выявлены в 40 семьях (38,5%): в 17 семьях (16,3%) — 16 разных мутаций *EMD*, в 22 (21,2%) — 17 разных мутаций *LMNA*, в одной (1%) — мутация *FHL1*. Сравнение клинических характеристик МД ЭД типов 1 и 2 выявило некоторые качественные различия КМП. При клиничко-генеалогическом анализе отмечено фенотипическое разнообразие всех типов МД ЭД, в том числе внутрисемейное. У 64 больных с ненайдёнными мутациями в трёх генах МД ЭД проведён поиск частых мутаций генов *CAPN3*, *FKRP*, *SGCA*, *ANO5*, *DYSF*, ответственных за основные формы аутосомно-рецессивных конечностно-поясных МД типов 2A, 2I, 2D, 2L и 2B, соответственно. У четырёх больных найдены мутации *CAPN3*, у одного — *ANO5*. С учётом этих больных доля верифицированных диагнозов в исходной выборке составила 43,3%. Очевидно, большая доля молекулярно нерасшифрованных случаев при фенотипах МД ЭД частично связана с генокопиями МД ЭД среди других МД, в частности, конечностно-поясных.

Случай делеции хромосомы 7

**Александрова В.В.^{1,2}, Гуринова Е.Е.^{1,2},
Иванова Р.Н.^{1,2}, Сухомясова А.Л.^{1,2}**

¹ ГБУ РС(Я) «Республиканская больница №1 — Национальный центр медицины», Якутск, Сергеляхское ш., 4, Valentina888@yandex.ru

² ФГУ Якутский научный центр КМП ФАНО, Якутск

Обследован ребёнок 2 лет в связи с грубой задержкой физического и психомоторного развития. Из анамнеза известно, что ребёнок от повторнородящей матери 40 лет. Роды преждевременные, на 35 неделе.

При клиническом осмотре: диспластичное телосложение, нанизм, гипотрофия, микроцефалия, сходящийся страбизм, короткая шея, спастический тетрапарез, контрактура коленных и тазобедренных суставов, грубая задержка психомоторного развития: голову самостоятельно не держит, не переворачивается, не сидит, не стоит, не ходит.

Для цитогенетического исследования препараты метафазных хромосом были получены «непрямым» методом из лимфоцитов периферической крови, культивированных в течение 72 ч, в соответствии с общепринятой методикой. Метод дифференциального окрашивания хромосом — GTG. Анализ проведён на микроскопе Olympus BX43F, оснащённом цифровой камерой, с помощью программы автоматического кариотипирования CytoLabView.

Кариотип ребёнка: 46, XX, del(7)(q34) — терминальная делеция длинного плеча хромосомы 7.

При анализе доступной информации из различных баз данных и литературы нами была обнаружена идентичная моносомия длинного плеча хромосомы 7, кариотип: 46, XX, del(7)(q34). Для нее характерны тяжёлая задержка роста при рождении, низко посаженные уши, расщелина губы и неба, короткая шея, коарктация аорты, фиброз печени.

Анализ копийности хромосомного локуса 10q23.3-26.3 при глиобластоме

**Алексеева Е.А.^{1,4}, Танас А.С.^{1,4}, Прозоренко Е.В.²,
Зайцев А.М.³, Кирсанова О.Н.³, Стрельников В.В.^{1,4},
Залетаев Д.В.^{1,4}**

¹ ФГБНУ «МГНЦ», Москва, 115478, ул. Москворечье, д.1, e-mail: ekater.alekseeva@gmail.com

² ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва, 115478, Каширское ш., д.24

³ ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена», Москва, 125284, 2-й Боткинский пр., д.3

⁴ ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

Потеря гетерозиготности (ПГ) маркёров длинного плеча 10-й хромосомы (10q) является одним из наиболее частых генетических изменений при глиобластоме. Однако ПГ отражает только наличие аллельного дисбаланса в исследуемой области без детальной информации об изменении копийности. Изучение области ПГ 10q методами, позволяющими охарактеризовать изменение копийности генов-кандидатов, расположенных в исследуемом участке, позволит идентифицировать потенциальные молекулярные маркёры.

Цель работы — комплексная молекулярно-генетическая характеристика района 10q23.3-26.3, содержащего гены-кандидаты *PTEN*, *FGFR2*, *MKI67*, *MGMT*.

Проанализированы 120 пар образцов глиобластомы и периферической крови.

Исследование аллельного дисбаланса в области 10q23.3-26.3 осуществлялось с помощью микросателлитного анализа. Система микросателлитных маркёров для выявления случаев ПГ области 10q23.3-26.3 включала 20 микросателлитных повторов. Доля образцов с ПГ в исследуемой области составила 72,5% (87/120). Исследование характера аллельного дисбаланса в об-

разных проводилось с помощью нового подхода для определения изменения числа геномных локусов — количественного микросателлитного анализа (КМА). Принцип метода основан на Taq-Man ПЦР в реальном времени. В этом подходе в качестве зонда для детекции продукта используется олигомер, состоящий из 21 нуклеотида, комплементарный к (CA)_n-повтору. Эндогенным контролем служила одновременная амплификация в одной лунке набора пар праймеров к 6 геномным локусам, содержащим (CA)_n-повторы и расположенным на различных хромосомах, нарушения копийности которых не характерны для глиобластомы. С помощью КМА было проанализировано 66 образцов глиобластомы с выявленной ПГ. В 34 образцах выявлена только одна копия исследованной области (делеция), а в 32 образцах выявлены две копии (однородительская дисомия).

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №14-04-31832 мол_а.

Анализ изменения экспрессии генов в периферической крови пациентов на ранних симптомных стадиях болезни Паркинсона

**Алиева А.Х.*¹, Филатова Е.В.¹, Карабанов А.В.²,
Иллариошкин С.Н.², Сломинский П.А.¹, Шадрин М.И.¹**

¹ Институт молекулярной генетики РАН (Москва), Россия

² Научный центр неврологии РАМН (Москва), Россия

* e-mail: anelja@img.ras.ru

Болезнь Паркинсона (БП) является одной из самых распространённых нейродегенеративных патологий. Ключевым компонентом патогенеза БП является гибель нигростриатных нейронов среднего мозга пациентов, что, в свою очередь, приводит к снижению концентрации дофамина и нарушению передачи сигнала между структурами мозга. Из-за невозможности изучения эндогенных процессов, происходящих в мозге пациентов с БП на досимптомной стадии, механизмы, инициирующие развитие заболевания, остаются неизвестными. Одним из подходов к изучению ранних стадий БП является анализ изменения экспрессионного профиля периферической крови пациентов с БП, находящихся на ранних стадиях развития заболевания.

Нами был проведён анализ изменения экспрессии генов-кандидатов БП и уровней микроРНК, отобранных, исходя из данных биоинформатического анализа и литературных данных. Анализ проводился в периферической крови пациентов с недавно поставленным диагнозом БП (подвергавшихся и не подвергавшихся лечению), в группе здорового контроля и группе неврологического контроля. В результате было выявлено статистически значимое и специфичное повышение экспрессии генов *ATP13A2*, *PARK7* и *ZNF746* более чем в 1,5 раза у пациентов с БП, не подвергавшихся лечению.

По результатам экспрессионного анализа для исследуемых микроРНК не было обнаружено достоверных отличий в группе пациентов с БП, не подвергавшихся лечению, по сравнению с контролем. Однако для пяти микроРНК (*MIR7*, *MIR9-5p*, *MIR9-3p*, *MIR129* и *MIR132*) было выявлено статистически значимое увеличение их уровней в группе больных, подвергавшихся лечению. Это указывает на высокую чувствительность соответствующих микроРНК к проводимой терапии и их определённую роль в наблюдаемых эффектах от лечения у пациентов с данным заболеванием.

Разработка генов-мишеней и средств терапии колоректального рака на основе функциональной геномики

**Алимов А.А.¹, Коротаева А.А.¹, Кузванова А.Ю.¹,
Маслов М.А.², Карпухин А.В.¹**

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1, andrei.alimov2010@yandex.ru

² Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, 119571, Москва, пр. Вернадского, д.86

Идентификация генов, участвующих в формировании сигнальных путей в клетках опухоли — одно из наиболее значимых достижений в области молекулярной генетики последнего десятилетия. Выявление на этой базе эффективных генов-мишеней терапевтического воздействия и разработка лекарственных средств нового поколения требует решения ряда теоретических и методических задач. Представляемые данные относятся к молекулярно-генетическому этапу создания лекарственных средств на основе РНК-интерференции, как подхода, позволяющего, направленно воздействовать на сигнальные пути клеток опухоли. В качестве основного объекта исследования использованы культивируемые клетки колоректального рака. Проведен поиск и идентификация сигнальных путей, обеспечивающих выживание клеток аденокарциномы прямой кишки. На основе функциональной геномики выявлены гены, пригодные для направленной инактивации сигнальных путей при помощи малых интерферирующих РНК (миРНК). Разработаны модифицированные миРНК с пониженной иммуногенностью и повышенной устойчивостью к внешним воздействиям, созданы липосомальные векторы для доставки миРНК в клетки колоректального рака. В ходе функциональных исследований показано, что устойчивость клеток к цитостатическому препарату оксалиплатину обусловлена повышением уровня экспрессии генов ингибиторов апоптоза. Были сконструированы оригинальные миРНК для направленной инактивации генов. Ингибирование любого из выявленных генов способствовало переходу клеток в апоптоз. При применении разработанной новой комбинации генов-мишеней и соответствующих миРНК на фоне низких концентраций оксалиплатина (в 15–20 раз ниже терапевтических) гибель клеток достигала 80%. Высокий уровень апоптоза показан тремя различными методами. При использовании разработанных модифицированных миРНК получены близкие по значению результаты. Для доставки миРНК в клетки предложен и апробирован новый липосомальный вектор на основе катионных липидов. Таким образом, проработанная молекулярно-генетическая часть работы позволяет надеяться на создание, в скором будущем, нового лекарственного средства на основе РНК-интерференции.

Работа частично поддержана грантом РФФИ №14-04-32074.

Гены, влияющие на обработку информации о социальных объектах при расстройствах шизофренического спектра

Алфимова М.В.¹, Аксенова Е.В.¹, Ганишева Т.К.², Шемакина Т.К.², Чубабрия К.В.², Голиббет В.Е.¹

¹ ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», 115522, Москва, Каширское ш., 34; m.alfimova@gmail.com

² — ГКУЗ ПКБ №1 им. Н.А.Алексеева ДЗМ, Москва

Нарушения процессов обработки информации о социальных объектах являются существенными, ухудшающими адаптацию пациентов, проявлениями ряда психических расстройств, в частности таких, как шизофрения и аутизм. Для изучения вклада генетического полиморфизма в выраженность данных нарушений может быть использована схема, созданная в рамках проекта RDoC, обобщающего данные нейронауки и предлагающего пути использования этих данных для понимания психопатологии (Cuthbert, 2014). Схема включает наиболее интересные для психиатрии домены поведения и их составляющие (конструкты), а также важнейшие единицы анализа каждого конструкта на различных уровнях — от генетического до поведенческого. Нами проведено молекулярно-генетическое исследование двух конструктов домена «системы для социальных процессов». Выборку составили 400 больных расстройст-

вами шизофренического спектра и 250 здоровых испытуемых. В рамках широкого психологического обследования испытуемые выполняли задания на распознавание мимической экспрессии эмоций (конструкт Социальная коммуникация) и на понимание намерений, мыслей, эмоций других людей (Восприятие и понимание других). В подгруппах больных и здоровых были изучены ассоциации данных способностей с генами-кандидатами, предложенными для этих фенотипов в рамках RDoC, — *COMT*, *SLC6A4*, *BDNF*, *AVPR1A*, а также с рядом других полиморфных локусов в генах нейротрансмиттерных систем, предположительно вовлеченных в патогенез шизофрении — *DRD2*, *DRD4*, *HTR2A*, *HTR2C*, *GRIN2B*. Эффекты генов и межгенового взаимодействия обнаружены преимущественно для способности распознавать эмоции. Наиболее выраженные нарушения этой способности у больных связаны с носительством короткого аллеля *SLC6A4* 5-HTTLPR и «аллеля риска развития аутизма» *AVPR1A* RS3, а также с сочетанием минорных аллелей *DRD2* Taq1A или *DRD4* VNTR с минорным аллелем *GRIN2B* C366G. Направление и выраженность влияния изученных аллелей на социальные фенотипы при расстройствах шизофренического спектра не совпадало с таковым в норме. Полученные данные расширяют представления о роли ряда генов в нарушениях восприятия эмоциональной мимики и подчеркивают важность учёта контекста, в котором действуют конкретные генетические варианты.

Спектр и частота мутаций в гене *PAH* у больных фенилкетонурией Ростовской области

Амелина М.А.¹, Степанова А.А.², Поляков А.В.², Амелина С.С.^{1,3}, Зинченко Р.А.^{2,4}

¹ ФГАОУ ВО Академия биологии и биотехнологии «Южного Федерального Университета», 344006, г.Ростов-на-Дону, проспект Стачки 194/1, e-mail: samelina@mail.ru

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

³ ГБОУ ВПО РостГМУ Минздрава России, Россия, 344022, г.Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29

⁴ ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» МЗРФ, 117997, Москва, ул. Островитянова, д.1

Фенилкетонурия (ФКУ; MIM #261600) — это наследственное заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, относящиеся к группе ферментопатий и обусловленное нарушением метаболизма аминокислоты — фенилаланина.

Цель: изучить спектр и частоты мутаций в гене *PAH* у больных ФКУ в Ростовской области (РО).

Определены частота и спектр мутаций в гене *PAH* у русского населения РО. В настоящее время в регистре наследственных заболеваний РО зарегистрирован 221 больной ФКУ. Частота ФКУ в РО, по результатам неонатального скрининга, составляет 1:4978.

При проведении ДНК-диагностики различными методами определены мутации в гене *PAH* среди больных ФКУ, всего исследовано 125 больных (250 хромосом). Спектр представлен 40 различными мутациями. Наиболее часто встречающейся мутацией выявлена R408W (63,20%). Следующими определены мутации IVS12+1G>A (4%) и IVS10-11G>A(4%), затем мутации R261Q (3,60%) и P281L (2,80%), R261X (1,20%). В одинаковом проценте случаев выявлены мутации R158Q, R252W, EX5DEL — (2,00%) и мутации IVS4+5G>T, IVS10-3C>T. Четыре мутации — IVS11+1G>C, F39del, E280K, A300S определены также с одинаковой частотой (0,80%).

Остальные 24 мутации (IVS2+13T>G, IVS7+1G>A, IVS7-5T>C, IVS9+5G>A, A342T, A403V, E390G, F299C, K363fsdelG, R176X, R243X, R261G, R408Q, T372S, V399V, Y268C, Y387H, Y414C, c.1089del G, p.I306V, p.N133_Q134> Rfs, p.V245A, c.47_48delCT, c.1298dupT) выявлены в единичных

случаях, что составляет в общей сложности 9,60%. Диагностическая эффективность составила 100%.

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

Сочетанность генетических факторов у пациентов с нарушением репродукции

Андреева М.В., Черных В.Б.,
Сорокина Т.М., Курило Л.Ф.

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

Генетические факторы являются фундаментальными для развития и функции всех органов и систем организма, в том числе репродуктивной. Рост знаний генетики, а также опыт собственных исследований свидетельствуют о повышенной частоте различных типов мутаций (2 и более) при нарушении репродукции. При этом мутации могут затрагивать разные уровни генома и быть связанными или несвязанными по своему генезу. Сочетание факторов, негативно влияющих на репродуктивную систему, может влиять на тяжесть фенотипических проявлений при синдромальных или несиндромальных генетически обусловленных нарушениях репродукции, усиливать вклад генетических факторов в генезе мультифакториальных форм. Так, нами выявлено наличие микроделений Y-хромосомы у 20—25% пациентов с синдромом Клайнфельтера, пациентов с мозаицизмом по гоносомам и у мужчин с робертсоновскими транслокациями. Наличие структурных перестроек хромосом X и Y является фактором их митотической нестабильности, predisposing к нерасхождению хромосом и мозаицизму. У мужчин со сбалансированными перестройками хромосом присутствие дополнительных генетических факторов, влияющих на сперматогенез и уровень анеуплоидии, степень зрелости хроматина и целостности ДНК в гаметах, может снижать их фертильность. Повышенная частота преимущественной инактивации X-хромосомы обнаружена у пациентов с аномалиями гоносом. Для некоторых мутаций половых хромосом изменения, затрагивающие различные уровни (хромосомный, генный и эпигенетический), являются зависимыми, например при X-сцепленных мутациях может наблюдаться и преимущественная X-инактивация. Количество сочетаний различных генетических факторов, определяющих способность к репродукции, велико, и для большинства из них фенотипические проявления не охарактеризованы, а для уже описанных и охарактеризованных могут варьировать в значительной мере. Анализ сочетаний генетических факторов, негативно влияющих на репродукцию, станет ещё более актуальным при комплексном генетическом обследовании, широком применении методов полноэкзомного/геномного секвенирования ДНК и других высокоразрешающих методов. Оценка значимости подобных сочетаний повысит эффективность медико-генетического обследования и консультирования пациентов с нарушением репродукции, а также расширит спектр профилактических мероприятий.

Редкий случай двойной кольцевой хромосомы 21 у новорождённого мальчика

Антоненко В.Г.¹, Бёме А.А.¹, Демикова Н.С.¹,
Опарина Н.В.¹, Миньженкова М.Е.², Шилова Н.В.²,
Золотухина Т.В.²

¹ ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»
E-mail: avalgen@yandex.ru

² ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», 129110, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2

Представляем редкий случай двойной кольцевой хромосомы 21 у новорождённого мальчика. Ребёнок от 1-й беременности, родился в срок, с массой 3200 г, длиной 50 см. В связи с клиническими проявлениями синдрома Дауна было проведено цитогенетическое исследование. Кариотип: mos 46,XY,dup r(21)(::p11.2->q22.3::q22.3-p11.2::)[86]/45,XY-21[14], т.е. в большей части клеток была выявлена двойная кольцевая хромосома 21, а в 14% клеток присутствовала только одна хромосома 21. Для уточнения характера перестройки использован метод FISH с ДНК-зондом на субтеломерный район длинного плеча хромосомы 21 (TelVision 22q) на метафазных пластинках. Было показано наличие двух копий локуса *AMLI*(21q22.12) и отсутствие субтеломерного района длинного плеча хромосомы 21: ish dupr(21)(*AMLI*++) (*D21S11*46-). При анализе интерфазных ядер на препаратах из некультивированных клеток периферической крови с использованием ДНК-зонда *LSI 21(q22.13-q22.2)* (Vysis, Abbott) был выявлен мозаицизм по хромосоме 21: nuc ish (*D21S34*1x3)/(*D21S34*1x1)[13]. Таким образом, было показано, что присутствие клеток, содержащих одну хромосому 21, не является следствием культивирования, а свидетельствует о наличии стабильного клона, во всяком случае, в лимфоцитах периферической крови. В результате хромосомный дисбаланс ребёнка включает мозаицизм по частичной трисомии хромосомы 21, частичной моносомии по субтеломерному району длинного плеча хромосомы 21 и моносомии по хромосоме 21. Влияние дополнительного хромосомного дисбаланса на фенотип ребёнка трудно оценить, так как сам синдром Дауна имеет широкий спектр клинической вариабельности. При осмотре пациента в возрасте 1 год 9 мес. отмечено отставание в психомоторном развитии и микроцефалия: долихоцефалия, монголоидный разрез глаз, эпикант, высокая переносица, полные щёки, макроглоссия, оттопыренные ушные раковины, клинодактилия V пальцев кистей, сандалевидная щель, мышечная гипотония. Дополнительные исследования выявили: открытое овальное окно, увеличение печени и желчного пузыря, спленомегалию, мелкие кисты в паренхиме увеличенной левой почки.

Полиморфизм гена *DBH-AS1* в патогенезе мигрени и панических расстройств

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

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

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

³ Университетская клиника головной боли, Москва, Россия

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

⁵ Университетская диагностическая лаборатория, Москва, Россия

Мигрень и паническое расстройство (ПР) — хронические заболевания, широко распространённые в популяции и зачастую коморбидные. В патогенез данных заболеваний вовлечены различные нейротрансмиттерные системы, в том числе показано нарушение работы дофаминергической системы у пациентов с мигренью, что привело к активному поиску участия в патогенезе мигрени нарушений обмена дофамина. Также биохимические и поведенческие исследования свидетельствуют о вовлечении дофаминергической системы в патофизиологию ПР. Одним из ключевых белков синтеза дофамина является дофамин-бета-гидроксилаза, кодируемая геном *DBH*. Полиморфизм этого гена активно изучается при различных неврологических и психических заболеваниях. В пределах геномной последовательности гена *DBH*, на противоположной цепи, расположен ген, кодирующий *DBH antisense RNA 1 — DBH-AS1*, ра-

нее не исследованный в связи с его возможным участием в патогенезе мигрени и ПР. Этот некодирующий белок транскрипт может регулировать трансляцию *DBH*. Целью нашей работы являлся анализ двух SNP в гене *DBH-AS1* rs2097629 (n.2233+9T>C, 3'-область) и rs6271 (n.257G>A, экзон 1) методами ПЦР-ПДРФ и аллель-специфичной ПЦР в реальном времени. В работе использованы следующие выборки: 146 пациентов с мигренью (МКГБ-III); 124 пациента с ПР (DSM-V); контроль — 373 необследованных жителей Москвы и Московского региона.

Не выявлено ассоциаций исследованных SNP с заболеваниями ($p > 0,3$ во всех случаях). Влияние замен на развитие ПР отсутствует. Анализ комплексных гаплотипов выявил сочетание аллелей rs2097629:T + rs6271:C, увеличивающее риск развития мигрени в 1,95 раза ($p = 0,022$), что свидетельствует о совместном вкладе замен в патогенез мигрени.

Функциональная геномика в изучении механизмов прогрессии и разработке биомаркёров светлоклеточного почечно-клеточного рака

Апанович Н.В.¹, Поляков С.В.¹, Петерс М.В.², Кортаева А.А.¹, Апанович П.В., Маркова А.С.², Камолов Б.Ш.², Пронина И.В.¹, Брага Э.А.¹, Матвеев В.Б.², Карпухин А.В.¹

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1, apanovichn81@mail.ru

² ФГБНУ «Российский онкологический научный центр имени Н.Н. Блохина», 115478, Москва, Каширское ш., д. 24

Для получения информации о молекулярно-генетических механизмах прогрессии рака почки и для разработки на этой базе биомаркёров, изучали светлоклеточный почечно-клеточный рак (скПКР), составляющий 70—80% всех случаев рака этой локализации. Был проведен биоинформационный анализ накопленных в мире данных с последующим количественным исследованием экспрессии генов. Скринировали несколько баз данных и публикации, отобранные по ключевым словам в PubMed. Было выбрано 200 генов с наиболее выраженной и частой экспрессией при скПКР. Профили экспрессии этих генов были определены в образцах опухоли скПКР по сравнению с нормальной почечной тканью с помощью количественной ПЦР в реальном времени. Был найден кластер коэкспрессии 21 гена. Анализ регуляции транскрипции и построение генной сети показали, что большинство генов в кластере являются прямыми мишенями гена *HIF1α*, что может объяснить их коэкспрессию.

При изучении прогностического значения выявленных генов была обнаружена ассоциация снижения экспрессии шести генов (*CA9*, *NDUFA4L2*, *VWF*, *IGFBP3*, *EGLN3*, *BHLHE41*) с болезнью-специфической выживаемостью (БСВ) ($p = 0,008$ — $0,044$). Среди этих генов были как новые, без установленного значения для прогрессирования опухоли при скПКР, так и хорошо известные биомаркёры скПКР, такие, как *CA9*. Найдено, что экспрессия комбинации указанных генов может выступать в качестве маркёров прогноза с чувствительностью 86% и специфичностью 92%. Повышенная экспрессия в значимой ассоциации с БСВ наблюдалась для гена *SAAT*. Медиана экспрессии трёх генов — *CSF1R*, *Fn1* и *CIQA* — была двукратно увеличена среди умерших больных. Все эти четыре гена связаны с воспалительными реакциями, способными приводить, в частности, к повышению инвазивности опухоли. Данные дают основания для предположения о последовательном вовлечении модулей $HIF1α \rightarrow HIF2α \rightarrow NF-KB / STATs$, что может приводить к агрессивному развитию опухоли. Таким образом, впервые показано скоординированное уменьшение экспрессии ряда регулируемых *HIF1α* генов в связи с плохим прогнозом при скПКР и выявлены потенциальные биомаркёры.

Экспрессия гена *TLX3* (*HOX11L2*) при Т-линейных острых лимфобластных лейкозах (Т-ОЛЛ) у детей

Апрелова Е.В.¹, Матвеева Е.А.¹, Казакова А.Н.¹, Солдаткина О.И.¹, Лагойко С.А.¹, Румянцев Ю.А.¹, Байдун Л.В.², Быданов О.И.³, Ольшанская Ю.В.¹, Масчан М.А.¹, Карачунский А.И.¹

¹ ФГБУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачёва Минздрава России, Москва, Россия

² ФГБУ Российская детская клиническая больница Минздрава России, Москва, Россия

³ ГУ Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии Министерства здравоохранения Республики Беларусь, Минск, Беларусь

E-mail: ev.aprelova@yandex.ru

Перестройки гена *TLX3* (*HOX11L2*) встречаются в 25% случаев детских Т-линейных острых лимфобластных лейкозов (Т-ОЛЛ). По данным некоторых авторов, перестройки гена *TLX3* имеют неблагоприятное прогностическое значение. Перестройка гена *TLX3* происходит в результате транслокаций t(5;14)(q35;q32) и t(5;7)(q35;q21), что приводит к эктопической экспрессии гена *TLX3*. В норме в костном мозге взрослого ген *TLX3* не экспрессируется.

Цель исследования — установить частоту встречаемости перестроек гена *TLX3* при Т-ОЛЛ у детей, определить клинико-морфологические характеристики прогностическое значение данной перестройки, оценить уровень экспрессии гена *TLX3* и возможности мониторинга минимальной остаточной болезни по экспрессии гена *TLX3*.

В исследование были включены 96 пациентов с Т-ОЛЛ и 4 пациента с бифенотипическим ОЛ (Т+миело). Медиана возраста составила 8,6 (1–17,5) года. Преобладали мальчики (74/26). В большинстве случаев выявлен Т2-Т3 вариант ОЛЛ. Методом FISH с ДНК-зондом *TLX3* FISH DNAProbe, SplitSignal (DAKO, Agilent Technologies) перестройка гена *TLX3* была выявлена у 26 из 96 пациентов с Т-ОЛЛ (27%) и у 3 из 4 пациентов с бифенотипическим лейкозом. Во всех этих случаях при исследовании методом RT-PCR была выявлена экспрессия гена *TLX3*, ни в одном из случаев без перестройки гена *TLX3* экспрессия гена этого гена не выявлялась. Предварительный анализ выживаемости показал тенденцию к более низкой выживаемости у пациентов с перестройкой гена *TLX3*.

В трёх случаях мы наблюдали пациентов длительно до и после трансплантации костного мозга. В двух случаях при появлении транскрипта последовал рецидив заболевания через 3–6 мес.

Т-ОЛЛ с перестройками *TLX3* составили 27%. Определение экспрессии гена *TLX3* методом RT-PCR и перестройки гена *TLX3* методом FISH являются эквивалентами. Определение экспрессии гена *TLX3* может применяться для мониторинга МОБ у этой группы пациентов.

Механизм влияния полиморфизмов кор-промоторов генов пищевого поведения человека на взаимодействие с ТАТА-связывающим белком

Аркова О.В., Пономаренко М.П., Аршинова Т.В., Савинкова Л.К.

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, пр.Лаврентьева, 10, forarkova@mail.ru

Транскрипция любого белок-кодирующего гена РНК-полимеразой II начинается со сборки базального транскрипционного комплекса на кор-промоторе. Сборка базального транскрипционного комплекса на ТАТА-содержащих промоторах начинается с узнавания и связывания ТАТА-бокса ТАТА-свя-

ывающим белком, TBP (TBP — TATA binding protein), субъединицей TFIID. Показано, что несмотря на вариабельность последовательности TATA-боксов, они очень чувствительны к однонуклеотидным заменам, которые могут быть ассоциированы с повышенным риском возникновения многих наследственных заболеваний.

В представленной работе, с использованием разработанного нами ранее метода предсказания сродства TBP/TATA [Пономаренко и др., 2009] и его экспериментальной проверки [Savinkova et al., 2013; Drachkova et al., 2014], *in silico* проанализированы 388 SNPs (SNP — single nucleotide polymorphism), расположенных в кор-промоторах 68 генов пищевого поведения человека. В результате мы выбрали 90 SNPs, которые могут либо увеличивать, либо уменьшать связывание TBP с кор-промотором и, соответственно, влиять на избыток либо дефицит белкового продукта гена и увеличивать риск возникновения заболеваний человека, связанных с нарушением метаболизма. Например, SNPs, обнаруженные во фланке TATA-бокса TATAAG гена лептина (лептин стимулирует противовоспалительные ответы, пролиферацию Т-лимфоцитов и др., является важным звеном между питанием и иммунной системой) по прогнозам, по-разному влияют на взаимодействие TBP/TATA: в случае SNP -35a → g, значение $-\ln K_D$ (TBP/TATA-сродство) может снизиться на 10% относительно нормы, в случае SNP -30a → t, он может повыситься на 1 %, в случае SNP -38g → a повыситься незначительно, на 1%.

В представленной работе мы впервые аннотировали *in silico* 90 SNPs из 68 генов пищевого поведения человека, потенциально связанных с нейрорегуляторными расстройствами. Выявленные SNPs гипотетически могут быть функционально значимыми для здоровья человека. Взаимодействие TBP/TATA, в большей или меньшей степени, влияет на транскрипцию гена и количество его продукта, что может делать вклад в широкий спектр нарушений в функционировании организма.

Работа поддерживается грантом РФФИ №14-04-00485

Применение скрининга на наследственные заболевания обмена веществ для коррекции диеты детей с атопическим дерматитом

Артемова Н.О.¹, Свечникова Е.В.¹, Куприянова Л.Я.², Максимова Ю.В.^{1,2}, Хорошеская Я.А.¹

¹ ГБОУ ВПО НГМУ Минздрава России, 630091, г.Новосибирск, Красный просп., 52
Natalya.artemova.89@mail.ru

² ГБУЗ НСО ГНОКДЦ, 630047, г.Новосибирск, ул. Залесского 6, корп. 7

Атопический дерматит (АД) — одно из самых распространенных заболеваний в раннем детском возрасте. Фенотип АД или сходные изменения кожи часто встречаются при наследственных болезнях обмена веществ (НБО) особенно у детей раннего возраста. Если АД является одним из симптомов заболевания обмена веществ, то лечение только АД без лечения основного заболевания приводит к торпидному течению АД и прогрессу НБО. За 2013 г. 111 пациентам с АД был проведен селективный скрининг на НБО. В данную группу включали пациентов, у которых имелся АД с прогрессирующим течением без положительной динамики на стандартной терапии: у пациентов до года — более 2 мес.; у пациентов старше года — более 4 мес. Только у 13 пациентов не выявлено отклонений. У 12 выявлено нарушение углеводного обмена, у двух — нарушения аминокислотного обмена, у одного выявлено орфанное заболевание глутаровая ацидурия типа I. У восьми пациентов были выявлены изменения характерные для патологии мочевыделительной системы (при дополнительном обследовании были выявлены различные нарушения функции почек).

У 75 чел. были выявлены различные ферментопатии, с учётом которых были назначены индивидуальные диеты с положительной динамикой клинической картины АД. Использование скрининга мочи позволяет выявить не только НБО, но и различные изменения, связанные с ферментопатиями, нарушением функции ЖКТ и мочевыделительной системы. Данный метод является доступным и экономичным.

Современное состояние и перспективы преподавания медицинской генетики в Российской Федерации: проблемы додипломного уровня подготовки

Асанов А.Ю.

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, ул. Трубецкая, д.8, стр.2; asanov@mma.ru

В настоящее время наследственная и врождённая патология занимает значительное место в структуре заболеваемости, смертности и инвалидизации населения. Требования к высокой клинической подготовке обучающихся в медицинских вузах страны должны достигаться высоким качеством образовательных программ и образовательного процесса.

Очевидно, что для глубокого понимания и возможности восприятия современных концепций и достижений генетики человека и медицинской генетики обучающимися, эффективного использования медико-генетических новаций в диагностике, лечении и профилактике заболеваний требуется понимание существующих проблем и поиск путей их преодоления. Одним из них является улучшение качества управления образовательным процессом и повышение качества образования.

В докладе обсуждается содержание трёх главных компонентов инновационного подхода к изучению медицинской генетики на додипломном уровне подготовки студентов-медиков: «проблемно-ориентированное освоение», принцип «Стрелы», «дистанционное самообучение».

Ассоциация полиморфизма генов сердечно-сосудистой системы с развитием гиноидной липодистрофии

Асеев М.В.^{1,2}, Полякова И.В.^{1,2}, Королькова Т.Н.³, Согомонян А.В.³, Стернин Ю.И.⁴, Лещев Д.В.⁵, Глотов О.С.^{1,2}

¹ ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург; micas@mail.ru

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

³ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, кафедра косметологии, Санкт-Петербург

⁴ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, кафедра лечебной физкультуры и спортивной медицины

⁵ СПб ГБУЗ «Городская больница №40», Санкт-Петербург, г.Сестрорецк

Методом ПЦР-ПДРФ анализа на 100 женщинах с гиноидной липодистрофией (ГЛД) изучена частота аллелей шести генов *MMP1*, *MMP3*, *VDR*, *Col1A1*, *ACE*, *NOS3*, ассоциированных с патологией сердечно-сосудистой системы. Для оценки результатов применен метод ранговой корреляции по Кендаллу. Ранги для изученных генов строились по количеству минорных аллелей в генотипе. Между количественными, ранговыми параметрами и частью качественных параметров рассчитывали корреляцию по Пирсону. Установлена неслучайная ассоциация ГЛД с аллельными вариантами генов (*MMP3*, *ACE*, *NOS3*), продукты которых вовлечены в метаболизм коллагена и в регуляцию процессов микроциркуляции крови

в сосудах, нарушение которых играет ключевую роль в патогенезе ГЛД. Полученные результаты дают основание полагать, что использование лечения, направленного на коррекцию патогенетических механизмов, лежащих в основе нарушения процессов микроциркуляции, является перспективным для лечения пациентов с ГЛД. Рассматривается возможность тестирования генов *MMP3*, *ACE*, *NOS3* для раннего выявления лиц с повышенным риском ГЛД.

Поиск протективных комплексных гаплотипов у пациентов с часто повторяющимися паническими атаками

Афончикова Е.В.¹, Рудько О.И.¹, Кокаева З.Г.¹, Азимова Ю.Э.², Фокина Н.М.², Наумова Е.А.¹, Климов Е.А.^{1,3}

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

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

³ Университетская диагностическая лаборатория, Москва, Россия

Панические атаки (ПА) — основной симптом панического расстройства (F41.0 — МКБ-10). ПА являются повторяющимися и неожиданно возникающими приступами страха, сопровождающимися соматическими симптомами. Спектр генов, участвующих в патогенезе панических расстройств до сих пор не определен. Целью нашей работы было выявление протективных в отношении ПА комплексных гаплотипов (паттернов аллелей) генов: *MAOA* (VNT), *CCK* (STR, rs11571842), *HTR1A* (rs6295), *COMT* (rs4680), *SLC6A4* (rs3813034), *TPH1* (rs1800532), *PDE4B* (rs1040716, rs502958, rs10454453), *CCK2R* (rs1805000, rs1805002), *CCK1R* (rs1800857, rs1799723, rs1800908), *BDNF* (rs6265, rs2049046), *DBH* (I/D). В исследование включены 1) московские пациенты (n = 124) с диагнозом *паническое расстройство* (DSM-V) и ПА не реже 1 раза в месяц и 2) необследованные жители Москвы и Московского региона (n = 373). Анализ однонуклеотидных замен проводили методами ПЦР-ПДРФ и ПЦР в режиме реального времени со специфичными зондами, STR и VNT — фрагментный анализ. Статистический анализ проведен с использованием программы APSampler 3.6. Нами выявлено 43 ассоциированных с заболеванием паттернов аллелей, имеющих поправку Бонферони $p < 0,01$. Из них 15 имели протективный эффект. Нами были отобраны паттерны уменьшающие риск развития заболеваний в 5 и более раз (таблица).

Паттерны аллелей	p-value	OR	CI(95%)
CCK1R_rs1800908:G,G	9,39e-09	0,194	0,111—0,339
CCK2R_rs1805000:C + CCK1R_rs1800908:G,G	7,05e-09	0,191	0,109—0,334
SLC6A4_rs3813034:G,T	1,51e-10	0,156	0,083—0,294
HTR1A_rs6295:G + CCK2R_rs1805000:C,C	2,53e-11	0,120	0,062—0,232
HTR1A_rs6295:G + CCK2R_rs1805000:C,C + CCK1R_rs1799723:A	1,79e-11	0,118	0,061—0,228

Основными генами в отобранных паттернах являются гены, кодирующие рецепторы холецистокинина (*CCK1R* и *CCK2R*), а также рецептор (*HTR1A*) и переносчик (*SLC6A4*) серотонина. Это свидетельствует об участии в формировании ПА серотонинергической и холецистокининергической систем.

Характеристика спонтанного уровня мутаций штаммов, используемых в тесте Эймса

Ахальцева Л.В., Журков В.С.

ФГБУ «НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н.Сытина» Минздрава России; 119992, Москва, Погодинская ул., д.10, стр. 1. E-mail: ahalv@mail.ru

Одним из обязательных условий использования методов оценки мутагенной активности факторов окружающей среды в системе токсикологической оценки является характеристика уровня спонтанного мутирования. В отечественных и международных рекомендациях указывается на необходимость включения в отчёт испытаний мутагенной активности веществ «данных по историческому (лабораторному) отрицательному (растворители) контролю»: диапазон колебаний, среднюю, стандартное отклонение.

Проанализированы данные экспериментов с растворителями (ДМСО и дистиллированная вода), проведенных в лаборатории генетического мониторинга в 2004—2014 гг. на штаммах *S. typhimurium* TA 100 и TA 98 и TA 97 в вариантах без и с метаболической активацией с 9000g фракцией гомогената печени самцов крыс Вистар после введения индуктора микросомальных ферментов Совол.

Не выявлено влияния системы метаболической активации и растворителя на среднее число колоний ревертантов в эксперименте для всех штаммов. Обобщенные параметры (исторический контроль) среднего числа колоний ревертантов штаммов TA 100, TA 98 и TA 97 на чашку в контрольных вариантах опытов даны в таблице.

Параметр	TA 100	TA 98	TA 97
Число опытов (N)	317	389	217
Min — Max	57—188	7—46	84—198,5
Х _{ср}	118,0	22,3	142,3
Медиана	119	21	139,5
σ	23,7	6,7	24,2
Х _{ср} + 2 σ	165,4	35,7	190,7
Х _{ср} - 2 σ	70,6	8,9	93,9

Колебания количества колоний ревертантов в контрольных вариантах экспериментов лаборатории для каждого штамма *Salmonella typhimurium* должны быть в пределах $X_{cp} \pm 2\sigma$.

Репликативное исследование по данным полногеномного анализа ассоциаций с болезнью Паркинсона в Республике Башкортостан

Ахмадеева Г.Н.¹, Хидиятова И.М.¹, Гилязова И.Р.¹, Магжанов Р.В.², Хуснутдинова Э.К.¹

¹ ФГБУН Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г.Уфа, imkhid@mail.ru

² ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет», г.Уфа

Болезнь Паркинсона (БП) — прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, частота которого среди лиц старше 55 лет составляет ~ 2%. В Республике Башкортостан (РБ) распространённость БП составляет 68,6 на 100 000 взрослого населения; частота семейных форм — 5,95%. Репликация результатов полногеномного анализа ассоциаций (GWAS) с БП в трёх этнических группах населения РБ проводится на основе коллекции ДНК 550 больных (русских — 215, татар — 243, башкир — 90) и 622 контрольных индивидов (русских — 190, татар — 338, башкир — 94). Исследование проведено по 15 полиморфным локусам, имевшим, по данным GWAS, наибольшие показатели степени ассоциации с БП: rs356219, rs356165, rs2737020,

rs2619364 и rs6532194 — ассоциированным с геном альфа-синуклеина (*SNCA*, 4p22); rs11012, rs2942168, rs393152, rs1724425, rs12373139 и rs1981997 — локализованным в хромосомном регионе 17q21.31 (охватывающем 543326 п.н., содержащем ген белка tau (*MAPT*)); rs1491942, rs1907632, rs34778348 (G2385R) — ассоциированным с геном *LRRK2*, и rs7077361 — в гене интегрин-альфа 8 (*ITGA8*).

Результаты анализа ассоциации исследованных полиморфных локусов с БП в трёх обследованных нами этнических группах оказались различными. Для русских маркерами риска развития БП являются следующие аллели и генотипы: rs356219*G ($p = 0,006$; OR = 1,58), rs356165*G ($p = 0,003$; OR = 1,64), rs2737020*T/C ($p = 0,02$; OR = 1,6) гена *SNCA*; rs11012*A ($p = 0,007$; OR = 2,12) и rs11012*G/A ($p = 0,02$; OR = 2,09) *MAPT*- региона; для татар — rs6532194*T ($p = 0,04$; OR = 1,40) гена *SNCA*; rs2942168*C ($p = 0,02$; OR = 1,60) и rs2942168*C/C ($p = 0,01$; OR = 1,75), rs393152*A ($p = 0,001$; OR = 1,92) и rs393152*A/A ($p = 0,001$; OR = 2,06), rs1724425 *C ($p = 0,04$; OR = 1,3) и rs1724425*C/C ($p = 0,01$; OR = 1,57), rs1981997*C ($p = 0,01$; OR = 1,72) и rs1981997*C/C ($p = 0,009$; OR = 1,84), rs12373139*C/C ($p = 0,02$; OR = 1,70) *MAPT*- региона; rs7077361*T ($p = 0,005$; OR = 1,74) и rs7077361*T/T ($p = 0,004$; OR = 1,8) гена *ITGA8*. Полиморфный вариант rs34778348*G/A (G2385R) гена *LRRK2*, являющийся известным маркером риска развития спорадической БП, в РБ обнаружен только среди пациентов с БП татарской этнической принадлежности (0,6%). В этнической группе башкир ассоциация с БП подтверждена только для локуса rs1491942 гена *LRRK2*: генотип *G/G является протективным в отношении развития БП ($p = 0,01$; OR = 0,07). Выявленные этносpezifические генетические маркеры БП могут быть использованы для раннего определения риска развития заболевания у жителей соответствующих регионов с целью его профилактики.

Изучение генетических факторов при формировании никотиновой зависимости

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

¹ Институт биохимии и генетики уфимского научного центра Российской академии наук, Россия, 450054, г.Уфа, Пр.Октября, 71 l.akhmadishina@gmail.com

² Башкирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, 450000, г.Уфа, Ленина, 3

Комплексная оценка влияния генетических и средовых факторов на риск возникновения многофакторных заболеваний, таких как хроническая обструктивная болезнь лёгких, позволяет не только установить ключевые ген-средовые взаимодействия, формирующие основу предрасположенности к болезни, но и понять механизмы, посредством которых факторы внешней среды способны спровоцировать патологические изменения. Нами были изучены ген-средовые взаимодействия статуса и индекса курения с полиморфными вариантами генов-кандидатов у курящих, а также при формировании ХОБЛ. Проведён анализ 57 полиморфных локусов предварительно отобранных генов-кандидатов, *IL6*, *TNF*, *IL17A*, *LTA*, *IL1B*, *IL1RN*, *IL8*, *VDBP*, *TLR4*, *MMP1*, *MMP2*, *MMP3*, *MMP9*, *MMP12*, *ADAM33*, *SERPINA1*, *SERPINA3*, *TIMP2*, *TIMP3*, *GPX1*, *NQO1*, *SOD1*, *SOD3*, *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, *CAT*, *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP1B1*, *CYP2A6*, *CYP2E1*, *CYP2F1*, *CYP2J2*, *CYP2S1*, *EPHX1*, *CHRNA5*, *CHRNA4*, *CHRNA3* в группах больных ХОБЛ и здоровых с учётом статуса, индекса курения, никотиновой зависимости. Статистически значимые взаимодействия со статусом курения определены для локусов *ADAM33* (12418A>G) (Pinteract = 0,026), *TIMP3* (-1296T>C) (Pinteract = 0,044), *VDBP* (1296T>G) (Pinteract = 0,05104), *CYP1A1* (2454A>G) (Pinteract = 0,047), *CYP2F1* (c.14_15insC) (Pinteract = 0,049), *GPX1*

(599C>T) (Pinteract = 0,041) *ILRN* (VNTR) (Pinteract = 0,05866). Взаимодействия с индексом курения установлены для локуса *SOD3* (691C>G) (Pinteract = 0,05402). Показано, что у носителей делеции гена *CYP2A6* (*CYP2A6**4) снижается показатель индекса курения ($p = 0,0019$). Выявлено, что локусы rs16969968, rs1051730 кластера генов *CHRNA3/5* связаны с развитием ХОБЛ только в группе курильщиков. Полученные результаты вносят вклад в понимание структуры генетической компоненты в формировании никотиновой зависимости и являются основой для познания механизмов патогенеза заболеваний, связанных с курением (ХОБЛ).

Анализ эпидемиологических данных регистра нервно-мышечных заболеваний в Республике Дагестан

Ахмедова П.Г.¹, Угаров И.В.², Умаханова З.Р.¹, Магомедова Р.М.¹, Зинченко Р.А.^{3,4}

¹ ГБОУ ВПО «Дагестанская государственная медицинская академия» МГРФ, Республика Дагестан, г.Махачкала, 367000, ул. Ленина д. 1; e-mail: argg@mail.ru

² ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» МЗРФ, Москва, 127473, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

³ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1

⁴ ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» МЗРФ, 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1

Для обеспечения хранения данных больных с наследственными нервно-мышечными заболеваниями (ННМЗ) и использования этих материалов для медико-генетического консультирования был создан Нейрорегистр Республики Дагестан (РД). Нейрорегистр для ННМЗ выполняет следующие основные функции:

1. Формирование базы данных по пациентам с ННМЗ и их родственникам (разработана унифицированная карта анкета);
2. Формирование групп риска, подлежащих медико-генетическому консультированию, обследованию дополнительными методами (ЭНМГ, КТ, МРТ), ДНК-диагностике, наблюдению и лечению;
3. Ведение, управление и контроль диспансерного наблюдения, анализ новых случаев заболевания;
4. Мониторинг ННМЗ в республике;
5. Группировка данных в виде сводных таблиц по различным критериям для анализа ситуации и её динамики на территории Республики Дагестан;
6. Получение статистических данных о частоте и структуре заболеваемости и оценка распространённости ННМЗ в целом по РД, а также в различных городах и районах.

Выявление больных осуществлялось из различных источников регистрации. Основными источниками для составления регистра служили: архивы и журналы регистрации учреждений МЗ РД (поликлиники, неврологические стационары, районные больницы); журналы консультативного приёма кафедры ФПК и ППС ДГМА за период с 2005—2013 гг.; специальные анкеты, заполненные врачами неврологами; данные МСЭК.

В регистр включены данные по 10 городам (1 276 278 чел.) и 41 району (1 633 971 чел.) РД. Суммарная численность обследованного населения — 2 910 249 чел. В регистр вошли данные о 531 больном из 235 семей. Средняя распространённость ПМД Дюшенна/Беккера составила $6,0 \pm 0,6/100\,000$ мужчин (накопление в Карабудахкентском районе $114,2/100\,000$), ПМД Эмери—Дрейфуса — $0,76 \pm 0,16/100\,000$ (накопление в Ахтынском районе $39,11/100\,000$), ПМД Ландузи—Дежерина $5,38 \pm 0,43/100\,000$ (накопление в Табасаранском районе $294,14/100\,000$), ПКПМД 2А $1,31 \pm 0,21/100\,000$ (накопление в Цумадинском районе $37,51/100\,000$), ПКПМД 2В

0,41 ± 0,12/100 000 (накопление в Ботлихском районе 15,46/100 000), ПКПМД тип Миоши 0,38 ± 0,11/100 000 (накопление в Ботлихском районе 17,18/100 000), ПМД синдром ригидного позвоночника 0,17 ± 0,08/100 000 (накопление в Цумадинском районе 20,84/100 000), ПМД окулофарингеальная 0,14 ± 0,05/100 000, СМА I—III тип 0,72 ± 0,16/100 000 (накопление в г.Избербаш 45,06/100 000), НМСН I тип 3,02 ± 0,32/100 000 (накопление в Гергебильском районе 96,6/100 000), НМСН 2 тип 0,38 ± 0,22/100 000 (накопление в г.Каспийске 7,8/100 000), НМСН IX тип 0,21 ± 0,08/100 000 мужчин, миотония Томсена 0,69 ± 0,15/100 000, миотоническая дистрофия 0,79 ± 0,17/100 000 (накопление в Сергокалинском районе 53,16/100 000).

Новая мутация в гене спастина (*SPG4*) у больных спастической парапегией из Республики Башкортостан

Ахметгалеева А.Ф.¹, Хидиятова И.М.¹, Идрисова Р.Ф.², Сайфуллина Е.В.², Мурзабаева С.Ш.², Магжанов Р.В.², Хуснутдинова Э.К.¹

¹ ФГБУН Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г.Уфа; biologaliya@mail.ru

² ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет», г.Уфа

Наследственные спастические параплегии (НСП) — клинически и генетически гетерогенная группа заболеваний, характеризующаяся постепенно прогрессирующей слабостью и спастичностью нижних конечностей, иногда сочетающаяся с добавочными неврологическими или экстракраниальными проявлениями. Распространённость НСП в среднем в мире составляет от 1,2 до 9,6 на 100 000 населения. Причиной НСП являются мутации в генах белков, участвующих в различных клеточных процессах. Существует более 50 генетических форм НСП с различными типами наследования и клиническими проявлениями заболевания. Около 45—50% аутосомно-доминантных случаев, 10—15% спорадических случаев НСП связано с мутациями в гене спастина (*SPG4*), состоящего из 17 экзонов, имеющего размер 6,71 т.п.н., и кодирующего белок длиной в 616 аминокислот. На сегодняшний день в гене *SPG4* идентифицировано более 300 различных мутаций.

В Республике Башкортостан (РБ) распространённость НСП составляет 3,5 : 100 000 населения. В ходе проводимого в РБ молекулярно-генетического исследования наследственных спастических парапегий в Республике Башкортостан в большой семье башкирской этнической принадлежности в гене *SPG4* идентифицирована ранее неописанная мутация — делеция 10 нуклеотидов в шестом экзоне, приводящая к сдвигу рамки считывания и образованию стоп-кодона через 15 кодонов после мутантного кодона (с.885del10 (p.Thr295ThrfsX16)). В данной семье заболевание передаётся по аутосомно-доминантному типу. Манифестация болезни у пробанда и его больных родственников отмечалась в начале третьего десятилетия жизни. Первыми симптомами болезни были ощущение скованности в ногах и изменение походки. При клиническом исследовании пробанда в возрасте 47 лет выявлены нижний центральный парализ с усилением спастического гипертонуса при инициации движения и формированием характерного паттерна ходьбы по типу «лыжника», а также сухожильная гиперрефлексия с клонусом стоп и патологическими рефлексми сгибательного и разгибательного типов. Отсутствие другой неврологической симптоматики позволило сделать заключение о наличии в семье варианта неосложнённой наследственной спастической параплегии. У здоровых членов данной семьи, а также в группе контрольных лиц башкирской этнической принадлежности (50 чел.) указанная мутация не обнаружена.

Молекулярно-генетические основы моногенных наследственных заболеваний в Центральной Евразии

Ахметова В.Л.¹, Пудова Е.А.², Малиевский О.А.³, Хуснутдинова Э.К.^{1,2}

¹ ФГБУН Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г.Уфа, пр.Октября, 71, e-mail: vita-akh@mail.ru

² ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет, г.Уфа, ул.Заки Валиди, 32

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

Целью настоящей работы было изучение молекулярно-генетической природы распространённых тяжёлых аутосомно-рецессивных заболеваний: фенилкетонурии (ФКУ) и врождённой дисфункции коры надпочечников (ВДКН), характеризующихся клиническим полиморфизмом, генетической гетерогенностью и неоднородным этно-территориальным распространением.

В результате проведённого анализа генов *PAH*, *QDRP* и *PTS* у 204 больных с ФКУ из разных регионов Центральной Евразии: Республики Башкортостан (РБ) (N = 147), республик Северного Кавказа (СК) (N = 37) и Республики Казахстан (РК) (N = 20), обнаружено 41 различных мутаций гена *PAH*, спектр которых оказался специфичным для каждой популяции: в РБ и РК с высокой частотой выявлена мутация *p.Arg408Trp* гена *PAH* (52,4% и 45,0% соответственно), в СК наиболее распространённой и обнаруженной только в данном регионе определена мутация *p.Arg261X* гена *PAH* (36,5%), тогда как мутация *p.Arg408Trp* гена *PAH* идентифицирована с частотой 13,5%. Высокая частота мутации *p.Arg261X* гена *PAH* в республиках СК, возможно, свидетельствует об эффекте основателя. Другие мутации гена *PAH* встречались с частотами от 9,3 до 0,2% в среднем. Обнаружено 5 новых ранее неописанных мутаций гена *PAH*: *c.116delT*, *p.Arg252Pro*, *p.His264Arg*, *c.1315+del4* у больных ФКУ из РБ, и *p.Phe331Ser* — у двух больных из СК. Показано, что полностью информативными для ДНК-диагностики прямым методом оказалось 85,8% изученных ФКУ-семей, частично-информативными — 11,8%, абсолютно неинформативными — 2,5%. Общая информативность составила 91,7%. В генах *QDRP* и *PTS* мутации не выявлены.

Проведённый анализ гена 21-гидроксислазы у 141 больного из РБ (N = 125) и Республики Кабардино-Балкарии (N = 16) позволил идентифицировать на 71,5% хромосом 11 различных мутаций гена *CYP21A2*: *delA2orLGC*, *I2splice*, *p.Arg356Trp*, *p.Gln318X*, *p.Ile172Asn*, *p.Pro30Leu*, *p.Val281Leu*, *p.Leu307fs*, *p.Pro453Ser*, *Arg426Cys* и ранее неописанную делецию в 9 экзоне *p.Ile384del* в компаунд-гетерозиготном состоянии с *delA2orLGC* у больного с сольтерющей формой заболевания из РБ. С наибольшей частотой выявлена делеция/конверсия гена *delA2orLGC* (28,9%), что согласуется с данными по другим популяциям мира. У 8 больных с ВДКН обнаружено присутствие двух мутаций на одной хромосоме: *Q318X+R356W* (2,5%), *I172N+Q318X* (0,36%) и *delA2orLGC+V281L* (0,36%), *I2splice+P453S* (0,36%), образующих кластер, унаследованный больным либо от матери, либо от отца. Общая информативность изученных семей с ВДКН для прямого метода ДНК-диагностики составила 71%.

Разработаны алгоритмы молекулярной диагностики ФКУ и ВДКН в изученных регионах.

Тестирование повреждающего действия антибактериальных препаратов на основе анализа структуры распластанных ядер сперматоцитов I порядка мыши

Ацаева М.М.¹, Коломиец О.Л.²

¹ ФГБОУВПО «Чеченский государственный университет»; *asaeva-mm@mail.ru*

² ФГБУ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова

Изучение генотоксического действия лекарственных препаратов на половые клетки человека является одной из актуальных проблем современной генетики и фармакологии. Актуальность проблемы обусловлена данными о постепенном снижении количества нормальных сперматозоидов (в среднем в два раза за период жизни двух генераций) и повышении доли терато- и некрозооспермии у мужчин практически во всех регионах мира.

Проведено сравнительное иммуноцитохимическое и электроно-микроскопическое исследование распластанных ядер сперматоцитов I порядка мышей на разных сроках (с 1 по 36 сутки) после окончания введения им противомикробных препаратов: фурацилина, цифрана и секстофага. В качестве групп сравнения использовали самцов после введения им воды и противоопухолевого цитостатика циклофосфана.

Установлено 6 основных типов нарушений в структуре и поведении синаптомембранного комплекса (СК). После введения фурацилина и цифрана выявлена мощная селекция сперматоцитов посредством механизма «мейотической катастрофы». Сперматоциты I порядка с нарушениями синапсиса хромосом подвергаются селекции с помощью механизма пахитенного ареста. Цифран вызывает нарушения в структуре и поведении СК, фрагментацию хромосом, нарушение синапсиса хромосом. Фрагментация хромосом в ядрах незрелых половых клеток потенциально несет риск делеций, формирования сложных перестроек хромосом или кольцевых хромосом. Выявленные после введения цифрана нарушения в структуре хромосом несут риск анеуплоидизации и хромосомной нестабильности половых клеток потомства.

Впервые в ядрах сперматоцитов самцов, получавших секстофаг, выявлены кольцевые структуры, «отпочковывающиеся» от боковых элементов СК. У полученных самцов, получавших фурацилин в 5,9% ядер сперматоцитов выявлены кольцевые хромосомы, что свидетельствует об увеличении ломкости теломерных сайтов хромосом у этих животных.

Установлено, что количество клеток с нарушениями СК со временем постепенно снижается, однако даже на 36 сутки после окончания введения препарата их количество оставалось достоверно выше чем в норме. В этом случае возникает риск сохранения отдельного клона или клонов генетически поврежденных сперматогониев, и, как следствие, частичной патозооспермии.

Многофакторные заболевания и продолжительность жизни

Бабушкина Н.П.

ФГБНУ «НИИ медицинской генетики»,
г. Томск, Наб. р. Ушайки, 10
nad.babushkina@medgenetics.ru

Предпринята попытка оценить, за счёт каких патологий могут формироваться различия в частотах аллелей и генотипов, выявленные при сравнении группы долгожителей (индивиды старше 90 лет) и средневозрастной популяционной выборки г. Томска (rs1799983 гена *NOS3*, rs1801275 гена *IL4R*, rs4291 в гене *ACE*, rs2069705 в гене *IFNG*). Проведен сравнительный анализ частот генотипов группы долгожителей с выборками больных ишемической болезнью сердца в сочетании с артериальной гипертензией (ИБС), хроническим вирусным гепатитом С (ХГВС), туберкулёзом лёгких (ТБ), бронхиальной астмой (БА); а также с их подгруппами, дифференцированными по качественным признакам (в том числе сопутствующим заболеваниям). Статистически значимые различия между группой долгожителей и средневозрастными группами с патологиями выявлены для полиморфных вариантов в двенадцати генах. Степень выра-

женности различий по этим SNP между группой долгожителей и популяционной выборкой позволяет выделить несколько наиболее значимых, изменения частот генотипов которых с увеличением возраста может быть обусловлено влиянием изученных патологий. Среди таких патологий БА (rs4343 (ген *ACE*), rs1042713 (ген *ADRB2*), rs1801275 (ген *IL4R*), rs2069705 (ген *IFNG*)); ТБ (rs1042713 (ген *ADRB2*)); ХГВС (rs11575926 гена (*IL12RB1*)). Анализ сопутствующих патологий позволил сделать ещё некоторые заключения. Показано, в частности, что в популяции в возраст-зависимой манере увеличиваются частоты рисков для развития сахарного диабета типа 2 (подгруппы с/без которого выделялись при изучении больных ИБС) генотипов rs4291 (ген *ACE*), rs1042713 (ген *ADRB2*) и rs2069705 (ген *IFNG*). Можно предположить, что эти варианты вносят свой вклад в увеличение частоты СД2 в более старших возрастных группах. Также можно предполагать, что в генетическую компоненту основных биохимических процессов при развитии сердечно-сосудистой патологии в целом вносят вклад эффекты rs2074570 гена *IL4R*, rs11126176 гена *PPP3R1*, rs804271 гена *GATA4*. Для них были выявлены статистически значимые различия между группой долгожителей и больными как с ИБС (в целом, либо с отдельными эндофенотипами), так и как минимум с одной из сопутствующих сердечно-сосудистых патологий при ХГВС (артериальная гипертензия и миокардиодистрофия).

Полученные данные требуют дальнейших исследований.

Ранняя манифестация наследственного ангионевротического отёка

Байбикова Г.Ш., Тимолянова Е.К., Шокарев Р.А.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, ул. Мечникова, 43.
E-mail: karelyan.vera@mail.ru

Наследственный ангионевротический отёк обусловлен недостаточностью C1-ингибитора системы комплемента и характеризуется отёками лица, слизистой гортани, тканей брюшной полости, которые провоцируются микротравмами и стрессом. В большинстве случаев заболевание возникает во втором десятилетии жизни и наследуется аутосомно-доминантно. Причиной наследственного ангионевротического отёка является мутация гена *C1NH*, расположенного в хромосоме 11g12.1. Однако Verru et al. (1996) описали гомозиготную мутацию промотора гена *C1NH* при тяжёлой форме этого заболевания.

Пробанд — мальчик М., 4 года, родивший у родителей 29 лет и 31 года, страдает часто возникающими отёками лица с 5 мес. Приступы провоцируются эмоциональным напряжением, интеркуррентными заболеваниями. Объём и длительность приступов постепенно учащаются, периодически приводя к затруднению дыхания. В течение последних 6 месяцев отёчность лица полностью не исчезает. Кроме того, родители отмечают расторможенность и плохой аппетит. С первых месяцев жизни ребёнок наблюдается по поводу перинатального поражения нервной системы, синдрома повышенной нервно-рефлекторной возбудимости, атопического дерматита. Психомоторное развитие — в пределах нормы. При осмотре ребёнка отмечена отечность щек, в остальном — без грубой диспластики.

Аналогичная патология не обнаружена у родственников пробанда. Родители ребёнка не исключают дальнее родство.

Исследование эстеразного ингибитора C1 комплемента выявило его количественное увеличение (0,415 г/л при норме до 0,4), при значительном снижении его функциональной активности (17% при норме 70—130%).

Учитывая тяжёлое течение заболевания, отсутствие аналогичной патологии в семье, возможность родственности брака родителей, не исключается редкая аутосомно-рецессивная форма заболевания.

Молекулярно-генетические особенности российских пациентов с тирозинемией типа 1

Байдакова Г.В.¹, Михайлова С.В.², Захарова Е.Ю.¹

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва

² ФГБУ Российская детская клиническая больница, Москва

Тирозинемия тип 1 — наследственное аутосомно-рецессивное заболевание, вызванное недостаточностью фумарилацетат-гидролазы, катализирующей последнюю ступень деградации тирозина. Средняя частота заболевания 1 : 100 000 — 1 : 200 000 новорождённых.

Ген фумарилацетат-гидроксилазы (*FAH*) картирован на хромосоме 15 (локус q23-q25) и состоит из 14 экзонов, разделённых 13 интронами. В гене описано около 80 мутаций, которые преимущественно представлены миссенс-мутациями.

Для некоторых популяций характерны свои особенности профиля мутаций.

С 2004 г. в лаборатории наследственных болезней обмена веществ проводится биохимическая (определение концентрации тирозина, метионина и сукцинилациетона с помощью ВЭЖХ-МС/МС анализа в пятках высушенной крови и моче) и молекулярно-генетическая диагностика (ПЦР-ПДРФ анализ и прямое автоматическое секвенирование) тирозинемии типа 1.

Диагноз установлен 21 пациенту из 21 семьи, выявлено 8 описанных ранее и 6 новых мутаций.

Клинический диагноз был установлен шести больным в РДКБ, трём пациентам в НЦЗД и 12 пациентам в клиниках из разных регионов РФ (г. Ростов-на Дону, Республика Татарстан, Саратовская область, Нижегородская область, Республика Дагестан и др.).

Мутация с.1062+5G>A обнаружена у шести пациентов в гетерозиготном состоянии (15,8% мутантных аллелей), с.554-1G>T (18,4% мутантных аллелей) — у четырёх пациентов (у трёх — в гомозиготном состоянии, у одного — в гетерозиготном). Также у шести пациентов выявлена мутация р.Pro342Leu (31,6 % мутантных аллелей) в гомозиготном состоянии.

Следует отметить, что данная мутация встретилась только у пациентов из Дагестана и Чеченской Республики.

Для мутаций с.1062+5G>A, с.554-1G>T и р.Pro342Leu (65,8% мутантных аллелей) разработан быстрый метод ПЦР-ПДРФ анализа, что позволяет проводить молекулярно-генетическое исследование в короткий срок.

New generation sequencing in clinical practice at the Children's hospital of Philadelphia

Bakay M., Gou Y., Li D., Connolly J., Lyon G., Guettouche T., Tian L., Wang W., Hakonarson H.

Center for Applied Genomics at the Children's Hospital of Philadelphia, 3615 Civic Center Boulevard, Philadelphia, PA 19104-4318; bakay@email.chop.edu

The past few years have seen a dramatic development in sequencing technology, which has made the per-base cost of DNA sequencing plummet by 100,000-fold over the past decade. Because of the affordable cost and high digital resolution, the new or 'next-generation' sequencing (NGS) technology is replacing the traditional hybridization-based microarray technology in many applications.

Recently, we have successfully used NGS to identify the causes of several Mendelian diseases by analyzing multiple unrelated cases. To name a few: Infantile Myofibromatosis (*PDGFRB* and *NOTCH3* genes), Thrombocytopenia (*ANKRD26*), Leukodystrophy (*TUBB4A*), Leber Congenital Amaurosis (*TULP1*).

However, it is more challenging to resolve the cause of extremely rare and suspected Mendelian diseases from individual families. We identified a family quartet with two children, both affected with a previously unreported disease, characterized by progressive muscular weakness and cardiomyopathy, with normal intelligence. By combi-

ning whole-genome sequencing (Complete Genomics platform), Sanger sequencing on blood samples and RNA-Seq (Illumina HiSeq platform), we identified *RBCK1*, a gene encoding an E3 ubiquitin-protein ligase, as the most likely candidate gene, with two protein-truncating mutations in proband. Sanger sequencing identified a private homozygous splice variant in *RBCK1* in the proband. RNA-Seq confirmed aberrant splicing of *RBCK1* transcripts, resulting in truncated protein products.

While the exact mechanism by which these mutations cause disease is unknown, our study represents an example of how the combined use of whole-genome DNA and RNA sequencing can identify a disease-predisposing gene for a novel and extremely rare Mendelian disease.

Although the cost of whole-genome or exome sequencing of all enrolled subjects is prohibitively high now, such studies will eventually be carried out in a manner similar to GWAS with very large sample sizes.

Частоты встречаемости различных мутаций в гене ФАГ у больных ФКУ в Ставропольском крае

Бакулина Е.Г., Терещенко В.В., Горошко Л.В.

Ставропольский краевой клинический консультативно-диагностический центр; e-mail: skkdc@skkdc.ru

Цель исследования — изучение частоты встречаемости различных мутаций в гене ФАГ у больных ФКУ в Ставропольском крае.

Проведено молекулярно-генетическое исследование методом аллель специфичного лигирования 70 больных ФКУ на 8 наиболее частых мутаций в гене ФАГ — IVS10-11G>A, R261Q, R252W, R408W, IVS12+1G>A, R158Q, P281L, IVS4+5G>T набором реагентов PKU8-L (Россия). ДНК выделяли из цельной крови набором реагентов «DNA-Blood» (Россия).

Наиболее распространённым генным дефектом является мутация R408W, которая обнаружилась в гомозиготном состоянии 30% случаев и в гетерозиготном состоянии в 40% случаев. Средняя частота встречаемости данной мутации среди разных этнических групп составляет 50%. Вторая изученная нами мутация R158Q идентифицирована в Ставропольском крае с частотой 7,1%. Мутация P281L встретилась с частотой 5,7%. Мутация R252W в исследованной выборке выявлена в гетерозиготном состоянии с частотой 4,3%. Мутация R261Q выявлена на пяти хромосомах в гетерозиготном состоянии, частота встречаемости в крае составила 3,6%. Мутация сайта сплайсинга в интроне 10 гена ФАГ — IVS10+11G>A встретилась с частотой 2,9%. Мутация сайта сплайсинга IVS12+1G>A, кодируемая в экзоне 12, также встречается в Ставропольском крае с частотой 2,9%. В рассматриваемой нами выборке не встретилась мутация IVS4+5G>T. У троих детей страдающих ФКУ, не было выявлено ни одной из вышеперечисленных мутаций. Они обследовались дополнительно в Центре молекулярной генетики г.Москвы. У всех троих (двое из караеуских семей, одна — даргинская) была выявлена нонсенс-мутация R261X. По нашим наблюдениям, течение заболевания у больных несущую данную мутацию тяжёлое, плохо поддающееся коррекции обычными схемами лечения.

Изучение популяционных систем как принцип создания биобанков (на примере народов Южной Сибири)

Балаганская О.А.¹, Лавряшина М.Б.², Богонова А.А.^{1,3}, Дамба Л.Д.^{1,3}, Балановская Е.В.³

¹ — Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, 119991, Москва, ул. Губкина, 3
² — Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, 119991, Москва, ул. Губкина, 3
³ — Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, 119991, Москва, ул. Губкина, 3
Olga.vasinskaja@mail.ru

- ² — ФГБОУ ВПО «Кемеровский государственный университет», 650043, Кемерово, ул. Красная, 6
³ — ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Россия, Москва, ул. Москворечье, 1

Анализ иерархии популяционной системы является перво-степенной задачей при создании биобанков, нацеленных на ге-ногеографические и прикладные исследования в этнологии, персонализированной медицине и судебно-медицинской экс-пертизе. Современные народы Южной Сибири сформирова-лись в результате сложных исторических процессов на основе различных кетских, самодийских, угорских племён при интен-сивных процессах метисации с кочевыми народами степей Ев-разии. В XX веке усилились этноконсолидационные тенден-ции. Поэтому малые народности Алтае-Саянского нагорья бы-ли объединены этнографами в крупные этнотерриториальные объединения «алтайцев» и «хакасов», являющихся по сути «эк-зоэтнонимами» по географическому принципу. До XX века тюркоязычные племена Алтае-Саянского нагорья, не имели общего названия и единого языка. Их самоназвания и самосо-знание и в XXI веке чётко фиксируется на популяционном уровне «малых народностей».

Анализ полиморфизма Y хромосомы девяти «малых народ-ностей» алтайцев (кумандинцев, челканцев, тубаларов, ал-тай-кижи, теленгитов) и хакасов (сагайцев, качинцев, кызыль-цев, койбалов) показал ярко выраженное своеобразие гено-фонда каждой из «малых народностей» и чёткие различия между ними: для каждой «малой народности» в составе алтайцев и хакасов характерна определённая мажорная Y гаплогруппа.

Это подтверждает генетическую реальность «малых народ-ностей». Анализ межпопуляционного разнообразия показал, что различия внутри этнотерриториальных объединений в 3 ра-за превышают межпопуляционное разнообразие между этно-территориальными объединениями. Это позволяет констати-ровать, что объединение «малых народностей» в крупные этно-территориальные группы не соответствует их исторической мо-дели формирования.

Этот феномен чётко показывает, сколь важен при форми-ровании биобанков учёт популяционной системы для охвата реального генетического разнообразия: ни одна из случайно «вырванных» из системы популяций не сможет адекватно представить этнический генофонд. Реализация такого подхода дает принципиально новую по степени подробности и досто-верности информацию о генофонде изучаемых народов.

Работа поддержана грантом РФФИ 13-06-00670 и Программой Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

Биобанк населения Северной Евразии

**Балановская Е.В.¹, Атраментова Л.А.², Богоунов Ю.В.³,
 Агджоян А.Т.^{3,1}, Балаганская О.А.³, Дамба Л.Д.⁴,
 Дубова Н.А.⁵, Евсеева И.В.⁶, Епископосян Л.М.⁷,
 Жабалин М.К.⁸, Кузнецова М.А.^{1,3}, Кучинская В.⁹,
 Лавряшина М.Б.¹⁰, Почешкова Э.А.¹¹, Схалыха Р.А.^{1,3},
 Тагако Л.И.¹², Чухряева М.И.^{1,3}, Утевская О.М.²,
 Юсупов Ю.М.¹³, Балановский О.П.^{3,1}**

¹ ФГБНУ Медико-генетический научный центр, 115478, Москва, ул. Москворечье, 1
 balanovska@mail.ru

² Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, Украина, Харьков

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

⁴ НИИ медико-социальных проблем и управления МЗ РТ, Респуб-лика Тыва, Кызыл

⁵ Институт этнологии и антропологии им. Н.Н. Миклухо-Мак-лая РАН, Москва

⁶ Северный государственный медицинский университет МЗ РФ,

г.Архангельск

⁷ Институт молекулярной биологии НАН Республики Армения, Армения, Ереван

⁸ Центр наук о жизни, Назарбаев Университет, Казахстан, Астана

⁹ Department of Human and Medical Genetics, Vilnius University, Lit-uania, Vilnius,

¹⁰ Кемеровский государственный университет, Кемерово, ул. Красная, 6

¹¹ Кубанский государственный медицинский университет МЗ РФ, г.Краснодар

¹² Институт искусствоведения, этнографии и фольклора НАН, Беларусь, Минск

¹³ ГБНУ «Институт гуманитарных исследований Республики Башкортостан», Уфа

Представляемый биобанк охватывает генетическое разно-образие коренных популяций Северной Евразии и активно ис-пользуется для популяционно-генетических и междисципли-нарных исследований. Исследования на основе биобанка опу-бликованы в таких журналах как Nature, Nature Communications, PNAS, American Journal of Human Genetics, Oncotarget и мно-гих других. На февраль 2015 г. биобанк содержит 23 310 образ-цов ДНК от представителей 237 региональных популяций 75 народов России, Армении, Азербайджана, Афганистана, Бело-руссии, Грузии, Литвы, Казахстана, Киргизии, Монголии, Тад-жикистана, Узбекистана, Украины. Образцы крови, плазмы и ДНК с известной концентрацией хранятся при –70°С. Биобанк создан в результате многолетних усилий ряда взаимодействую-щих научных коллективов под общим руководством Е.В. Балан-овской и О.П. Балановского. Впервые будет дана подробная характеристика биобанка.

Биобанк создаётся с 1998 г. по настоящее время, и работы в раз-ные годы финансировались международным проектом The Genog-raphic project, РФФИ, РГНФ, РНФ, Программами Президиума РАН, ФЦП «Исследования и разработки», Эстонским биоцент-ром и за счёт собственных средств держателей образцов.

Геногеография — медицине

Балановский О.П.

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, 119991, Мо-сква, ул. Губкина, 3; balanovsky@inbox.ru

Геногеография изучает генофонд — его структуру, историю формирования и динамику в пространстве и времени, а также включает широкий спектр приложений при решении проблем смежных областей науки. Применительно к популяциям чело-века на первый план обычно выходят исторические приложе-ния геногеографии — мелькающие на страницах ведущих ми-ровых журналов открытия вроде «митохондриальной Евы», ге-номов неандертальцев или денисовского человека, генетиче-ских следов монгольских завоеваний, переселений эпохи Вели-ких географических открытий и тому подобные.

При этом нередко в тени остается широкий спектр важных приложений, которые геногеография несет медицине — таким её областям, как медицинская генетика, фармакогеномика, су-дебно-медицинская экспертиза, онкология и многие другие. Восполнению этого пробела и посвящен данный обзорный до-клад. В нем будет дана панорама концепций, инструментов и возможностей геногеографии, включая анализ и интерпрета-цию полногеномных, «широкогеномных» и «полнохромосом-ных» данных, и освещены основные направления применения данных геногеографии к медицинским исследованиям.

Одним из таких направлений является прогноз груза ауто-сомно-рецессивной наследственной патологии через оценку интенсивности дрейфа генов по нейтральным маркерам. Дру-гая важная область применения — судебно-медицинская экс-пертиза, причём не только создание референсных баз данных и определение границ их применимости, но и разработка мето-дов определения вероятного этногеографического происхожде-

ния индивида по образцу его ДНК. Перспективным является использование накопленных знаний о структуре генофонда в фармакогеномике: можно уверенно прогнозировать положение генетических границ и сходство/различия конкретных групп населения по всему спектру генов, в том числе и ответственных за метаболизм лекарств. Будет показано, как данные о структуре генофонда и методы геногеографии используются в исследованиях онкогенов, мужского бесплодия и т.д.

Работа поддержана грантом РНФ 14-14-00827 (в части полного секвенирования Y-хромосомы), грантами РФФИ (13-04-01711, 14-06-00384) и Программой Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

Создание клинико-генетической базы данных пациентов с болезнью Вильсона—Коновалова

**Балашова М.С., Соловьева О.В., Жученко Н.А.,
Игнатова Т.М., Розина Т.П., Глотов А.С., Асанов А.Ю.**

*ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова
Минздрава России,
Москва, ул. Россолимо 11, корп. 5,
e-mail: zimt@list.ru*

Болезнь Вильсона—Коновалова (гепатолентикулярная дегенерация, БВК) — наследственное прогрессирующее заболевание, при котором происходит накопление меди в организме. Для БВК характерна исключительная гетерогенность клинических проявлений. Основной проблемой БВК остается несвоевременная диагностика заболевания. К настоящему времени у больных с болезнью Вильсона—Коновалова по всему миру идентифицировано уже более 500 патогенных мутаций в гене *ATP7B*.

В РФ исследованию частоты и спектра мутаций гена *ATP7B* посвящены единичные публикации. В клиническую практику не внедрены методы генетического скринирования членов семей больных БВК, а также медико-генетического консультирования, что особенно важно для профилактики заболевания и его диагностики на доклинической стадии.

Впервые в России создаётся клинико-генетическая база данных пациентов с БВК и их родственников, наблюдающихся в Клинике нефрологии, внутренних и профессиональных заболеваний им. Е.М. Тареева Первого МГМУ им. И.М. Сеченова в течение более 30 лет. База включает клинические, лабораторные, инструментальные показатели, данные молекулярно-генетического исследования (секвенирование гена *ATP7B* методом NGS), а также данные об отдалённых эффектах пожизненной терапии комплексобразующими препаратами.

Создание подобной базы данных позволит изучить спектр мутаций в гене *ATP7B* в выборке российских больных (секвенирование гена *ATP7B* методом NGS); оценить генетическую гетерогенность и клинический полиморфизм, а также факторы, влияющие на прогноз и течение БВК; изучить отдалённые эффекты длительной непрерывной терапии медьэлиминирующими комплексобразующими препаратами; оценить качество жизни пациентов с БВК.

Накопленная информация впоследствии сможет использоваться в клинической работе для оценки прогноза заболевания, тяжести течения и исходов БВК, персонализации методов диагностики, подбора терапии, прогнозирования качества жизни пациентов с БВК.

Анализ профиля экспрессии 500 генов, ассоциированных с работой иммунной системы у больного с умственной отсталостью, облучённого внутриутробно в связи с аварией на Чернобыльской АЭС

**Балева Л.С., Якушева Е.Н., Тагирова М.К.,
Сипягина А.Е., Карахан Н.М., Сухоруков В.С.**

*НИКИ педиатрии ГБОУ ВПО Российского Национального медицинского университета им. Н.И. Пирогова, Москва, Российская Федерация, 124442, ул. Талдомская, 2;
lbaleva@pedklin.ru*

Основными медико-биологическими последствиями действия малых доз радиации на геном человека являются эпигенетические изменения функционирования генома и геномная нестабильность, которые приводят к злокачественным новообразованиям, умственной отсталости, врождённым порокам развития, наследственным и хромосомным (генным) заболеваниям в поколениях детей от облучённых родителей. Анализ госпитализированной заболеваемости показал значительную долю задержки умственного развития (ЗУР) у внутриутробно облучённых детей после аварии на ЧАЭС. Получены данные об ассоциации ЗУР с дисморфогенезом головного мозга и церебральных сосудов.

Проведён анализ профиля экспрессии 500 генов, ассоциированных с работой иммунной системы, на анализаторе нуклеиновых кислот nCounter (Nanostring technologies, США) продемонстрировал статистически значимое различие ($p < 0,05$) экспрессии 10 генов (повышенная экспрессия — гены *IL1B*, *CXCL1*, *PTGS2*, *EGR2* и пониженная — *IL17B*, *KIT*, *BATF3*, *CD83*, *CCL16*, *ATG12*) из 500 исследованных генов у больного с умственной отсталостью, облучённого внутриутробно в связи с аварией на ЧАЭС. Группой сравнения послужили дети с различными иммунопатологическими состояниями (атопический дерматит, хроническая крапивница, бронхиальная астма). Нормализация данных была проведена по экспрессии 15 референсных генов, предложенных от компании производителя реактивов (Nanostring technologies, США). Дальнейший биоинформатический анализ 10 генов выявил изменение экспрессии функционирования генов *IL1B*, *CCL16*, участвующих в воспалительных реакциях в нервной системе, генов *EGR2*, *BATF3* — в регуляции транскрипции генов, генов *KIT*, *ATG12* — в регуляции процесса апоптоза, гена *IL17B* — с функционированием нервной системы. Изменение экспрессии генов *CXCL1*, *PTGS2*, *CD83* по данным научной литературы имеет ассоциацию с процессами онкогенеза.

Оригинальные данные нашего исследования могут внести вклад в понимание механизмов формирования умственной отсталости в результате радиационного внутриутробного облучения и радиационно-индуцированного онкогенеза.

Мультифакторные заболевания и системная генетика

Баранов В.С.

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

Многочисленные работы по изучению генетики количественных признаков, в том числе и МФЗ, свидетельствуют о сравнительно небольшом вкладе аллельного полиморфизма индивидуальных генов-кандидатов в их развитие. В настоящее время считается, что реальный вклад даже наиболее твердо установленных причинных генов, идентифицированных методом GWAS с высокой достоверностью (10^{-9} — 10^{-40}), в развитие МФЗ не превышает 4—10%. В этом отношении МФЗ кардинально отличаются от моногенных и даже олигогенных болезней, которые являются следствием сочетания неблагоприятных аллелей нескольких разных генов, для которых прогностическая точность генетического тестирования приближается к 100%.

В настоящее время очевидно, что проблемы генетики, в том числе и проблемы оценки риска у конкретного индивидуума, можно решить только путём изучения экспрессии и особенностей регуляции причинных генов, то есть используя методы и подходы системной генетики. Последнюю рассматрива-

ют как науку, изучающую генетическую архитектуру сложных признаков, в том числе МФЗ, взаимосвязи генетических компонентов метаболических путей и функциональных модулей в процессе развития признака или патологического процесса. На примере такого частого и сложного МФЗ, как эндометриоз (Э), поражающий до 10% женщин детородного возраста, рассмотрены последовательные этапы генетических и эпигенетических исследований, в результате которых сформулировано несколько различных гипотез патогенеза этого заболевания. Обсуждаются исследования последних лет, в том числе работы данной лаборатории по выяснению молекулярных механизмов патогенеза Э. Основное внимание обращено на поиск первичных клеток, дающих начало доброкачественным разрастаниям эндометрия вне полости матки, на факторы провоцирующие начало заболевания и его прогрессию. Рассмотрены вклад сочетаний неблагоприятного полиморфизма генов-кандидатов сложной геной сети Э и нарушений их эпигенетической регуляции в процессы имплантации эктопических гетеротопий в брюшину. На основании имеющихся данных предложена 2-этапная модель развития Э. Обсуждаются возможные пути проверки предлагаемой гипотезы, а также её значение для поиска биомаркёров Э, важных для ранней диагностики, профилактики и лечения.

Новая нонсенс-мутация p.W325X (с.977G>A) в гене *POU3F4* в якутской семье с синдромом Gusher (DFNX2)

Барашков Н.А.^{1,2}, Кларов Л.А.^{2,3}, Терютин Ф.М.^{2,3}, Соловьев А.В.², Пшеничникова В.Г.^{1,2}, Николаева К.Ю.², Конникова Э.Э.^{2,3}, Романов Г.П.², Готовцев Н.Н.², Саввинова К.Е.², Кожевников А.А.³, Васильева Л.М.⁴, Федотова Э.Е.⁴, Пак М.В.^{2,4}, Леханова С.Н.², Саввина Н.В.², Лугинов Н.В.^{2,3}, Морозов И.В.⁵, Бондарь А.А.⁵, Соловьева Н.А.^{1,2}, Рафаилов А.М.², Сазонов Н.Н.², Алексеев А.Н.⁶, Посух О.Л.^{7,8}, Джемилева Л.У.⁹, Хуснутдинова Э.К.^{9,10}, Федорова С.А.^{1,2}

¹ ФГБНУ «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем», г.Якутск
e-mail: barashkov2004@mail.ru

² ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», г.Якутск

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

⁴ — ГБУ РС(Я) «Республиканская больница №1 — Национальный центр медицины», г.Якутск

⁵ ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, г.Новосибирск

⁶ ФГБУН Институт гуманитарных исследований и проблем малочисленных народов Севера Сибирского отделения Российской академии наук, г.Якутск

⁷ ФГБУН Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, г.Новосибирск

⁸ ФГБОУ ВПО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», г.Новосибирск

⁹ ФГБУН Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, г.Уфа

¹⁰ ФГБОУ ВПО «Бакинский государственный университет», г.Уфа

Наиболее редкими в мире являются случаи врожденной глухоты, обусловленные мутациями *de novo* и случаи с X-сцепленным и митохондриальными типами наследования (1—2%) [Morton, 2006]. Впервые в якутской семье у двоих полусибсов (общая мать, разные отцы) мужского пола с врожденной глухо-

той (предположительно X-сцепленный — рецессивный тип наследования) методами компьютерной томографии были обнаружены идентичные аномалии внутреннего уха, характерные для синдрома Gusher. У обоих братьев внутренний слуховой проход был расширен в латеральной части, улитка сообщалась с внутренним слуховым проходом, преддверие улитки было расширено, а наружный и задний полукружные каналы увеличены в размерах. Родители пробандов подобных аномалий височной кости не имели. У четырех членов этой семьи (у пробандов, матери и у отца одного из пробандов) был проведен молекулярно-генетический анализ на наличие мутаций в гене *POU3F4*, картированного на X-хромосоме в локусе Xq21.1. Прямое ресеквенирование белок-кодирующей области гена *POU3F4* выявило ранее не описанную замену с.977G>A в гомизиготном состоянии у обоих пробандов, у их матери — в гетерозиготном состоянии, у отца второго пробанда данная мутация не была обнаружена. Данная нуклеотидная транзигция в 325 кодоне (p.W325X) приводит к образованию преждевременного стоп-кодона opal (UGA) в функционально значимом гомеодомене белка POU. Сегрегация характерных аномалий развития внутреннего уха с *POU3F4*-генотипами в исследованной якутской семье, свидетельствует об ассоциации идентифицированной мутации с фенотипом синдрома Gusher (DFNX2, OMIM 304400).

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ (14-04-01741_а), (15-44-05106-р_восток_а), проекта Министерства образования и науки РФ ГК №6.656.2014/К, Интеграционного проекта СО РАН №92 и Гранта Главы РС(Я) для молодых учёных, специалистов и студентов на 2015 г.(ПГ№76 от 06.02.2015).

Мониторинг врождённых пороков развития в популяции Республики Молдова

Барбова Н.И., Егоров В.В., Халабуденко Е.А., Стратила М.С.

Центр репродуктивного здоровья и медицинской генетики Института матери и ребёнка, Республика Молдова, Кишинев, ул. Буребиста, 93; e-mail: barbova_genetica@mail.ru

Врожденные пороки развития (ВПР) занимают второе место в Республике Молдова среди причин детской смертности. Регулярный мониторинг ВПР проводится с 1991 года, с 2009 года начата работа по включению Национального Регистра ВПР Республики Молдова в EUROCAT. Мониторинг ВПР в нашей стране проводится с целью определения частот ВПР в молдавской популяции, изучения их динамики и этиологии.

Изучена частота и структура ВПР в Республике Молдова на основе генетического мониторинга за период с 2009 по 2013 гг. Частота ВПР за этот период составила 17,5 на 1000 новорожденных.

Максимальная частота ВПР отмечалась в 2010 г. — 19,33 на 1000 новорожденных, минимальная — в 2012 г. — 16,0 на 1000 новорожденных.

В структуре ВПР по частоте встречаемости ведущее место занимают множественные пороки развития (МВПР) (25,24 ± 2,24%), пороки опорно-двигательного аппарата (19,54 ± 3,10%) и ВПР сердечно-сосудистой системы (16,48 ± 2,76%). При изучении структуры ВПР за исследуемый период отмечена тенденция к увеличению частоты МВПР с 19,8% в 2009 г. до 31,0% в 2013 г. и устойчивая тенденция к снижению ВПР опорно-двигательного аппарата и сердечно-сосудистой системы. Так, в 2009 г. ВПР сердечно-сосудистой системы составляли 23,6% от общего числа ВПР, а в 2013 г. — 19,0%, а частота ВПР опорно-двигательного аппарата соответственно снизилась с 21,6% в 2009 г. до 11,3% в 2013 г.

С наименьшей частотой за исследуемый период рождались дети с ВПР органов дыхания — $1,16 \pm 0,10\%$.

Распространённость отдельных нозологических форм ВПР в Молдове: синдром Дауна (1,24/1000 новорождённых), расщелина губы/неба (0,87/1000 новорождённых), *spina bifida* (0,29/1000 новорождённых), омфалоцеле (0,11/1000 новорождённых), атрезия пищевода (0,08/1000 новорождённых), соответствует показателям Международного регистра EUROCAT.

Данные мониторинга позволяют планировать и проводить профилактические мероприятия, направленные на снижение частоты рождения детей с ВПР в Молдове.

Клинический случай синдрома делеции 18p с образованием кольцевой хромосомы

Бариева Д.И.

Клиника семейной медицины, г.Казань, Ямашева 48б, diild@mail.ru

Синдром делеции короткого плеча хромосомы 18 впервые был описан Жан де Груши в 1963 г. и впоследствии было сообщено более чем о 100 больных с подобной аномалией.

В клинику обратилась семья с ребёнком в возрасте 1 года с задержкой психомоторного развития, мышечной гипотонией. Ребёнок от первой беременности, которая протекала с угрозой прерывания, от 1 родов весом 2980, длиной 50 см, по шкале Апгар 7 баллов. При обращении ребёнок наблюдался у невролога с диагнозом: Последствия перинатальной патологии головного мозга, ВУИ с синдромом интракраниальной гипертензии, задержкой высших корковых функций, получал лечение кортексином, нейромультивитом, кавинтоном. При объективном обследовании было обращено внимание на своеобразный фенотип больного — птоз, эпикант, западающая переносица, гипертелоризм, круглое лицо, нижняя микрогнатия, широкий рот с опущенными углами. Ребёнку было проведено цитогенетическое обследование, при которой выявлена хромосомная патология — делеция короткого плеча хромосомы 18, сочетающаяся с образованием кольцевой хромосомы. Родителям было предложено обследоваться на носительство сбалансированной транслокации или делеции 18p для выдачи генетического риска на последующую беременность. Возраст отца на момент рождения ребёнка составлял 36 лет, матери 27 лет. Таким образом, вся клиническая картина была вызвана имеющейся хромосомной патологией пробаанда, что свидетельствует о необходимости медико-генетического консультирования детей с задержкой психомоторного развития.

Полиморфизм Q192R гена *PON1* ассоциирован с развитием мозгового инсульта в популяции русских жителей Центрально-Черноземного региона России

Барт Ю.И., Стецкая Т.А., Булгакова И.В., Вялых Е.К., Рыжаева В.Н., Иванов В.П., Солодилова М.А., Полоников А.В., Бушуева О.Ю.

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

Оксидативный стресс играет важную роль в патогенезе цереброваскулярных заболеваний посредством механизмов, связанных с окислением липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), повреждением эндотелия, активацией моноцитов, пролиферацией гладкомышечных клеток и образованием пенных клеток. Параоксоназа 1 (*PON1*) — мощный антиоксидант — ингибирует окислительную модификацию ЛПНП.

Целью нашего исследования было изучение ассоциации функционально значимого полиморфизма Q192R (rs662) гена *PON1* с развитием МИ.

Материалом для исследования послужила выборка 483 больных МИ, русских жителей Центрально-Черноземного региона России (430 больных ишемическим инсультом, 53 больных геморрагическим инсультом; 283 мужчины, 200 женщин, средний возраст $61,07 \pm 10,09$ года) и 447 относительно здоровых индивидов (248 мужчин, 199 женщин, средний возраст $61,61 \pm 7,91$ года). Генотипирование проводили с помощью Taq-Man-зондов. Распределение частот аллелей и генотипов в обеих группах соответствовало равновесию Харди—Вайнберга.

У больных МИ отмечалось преобладание аллеля 192R (0,271) по сравнению с контролем (0,227): OR = 1,27, 95%CI = 1,03—1,56, $p = 0,03$. Кроме того, частота гомозигот 192QQ у больных МИ была относительно ниже (53,8%), чем в контрольной группе (60,2%): OR = 0,77, 95%CI = 0,59—1,00, $p = 0,051$.

Таким образом, полиморфизм Q192R гена *PON1* связан с риском развития мозгового инсульта в популяции русских жителей центрально-Черноземного региона России.

Оценка роли микрохимеризма в развитии посттрансплантационных осложнений после алло-ТГСК

Бархатов И.М., Шакирова А.И., Смыкова О.Г., Тепляшина В.В., Романюк Д.С., Семенова Е.В., Чухловин А.Б., Зубаровская Л.С., Афанасьев Б.В.

Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский Университет им. акад. И.П.Павлова Министерства здравоохранения РФ

Одним из возможных подходов у пациентов при отсутствии HLA-совместимого донора является гаплоидентичная трансплантация (гапло-ТКМ). Тем не менее, одним из основных осложнений в гапло-ТКМ является высокая вероятность развития РТПХ. В настоящее время имеются данные о связи между материнским микрохимеризмом (обнаружение материнской ДНК в крови реципиента-ребёнка) и увеличением вероятности РТПХ. В то же время, данные о влиянии фетального микрохимеризма на вероятность развития РТПХ противоречивы и требуют дальнейших исследований.

Определение микрохимеризма проводили в режиме реального времени с использованием аллельспецифичной ПЦР. Для анализа использовались 20 SNP маркёров, расположенных в разных хромосомах. Оценку чувствительности ПЦР проводили с использованием метода серийных разведений ДНК клеточных линий (HL60, K562, 293T, MOLT3, 549). Образцы были проанализированы у 20 пар донор—реципиент. Возраст больных колебался от 2 до 27 лет.

Чувствительность разработанного SNP на основе тест-системы в диапазоне от 10^{-4} до 10^{-5} . Мы выявили, что наличие фетального микрохимеризма (клеток реципиента) в организме донора ассоциировано с более низкой вероятностью развития острой РТПХ и со степенью её проявления ($p = 0,01$). Помимо этого, мы наблюдали тенденцию к повышению сроков приживления и снижению вероятности достижения полного донорского химеризма в случае выявления фетального микрохимеризма ($p = 0,12$). Вместе с тем, у пациентов, которым было выполнена гапло-ТКМ от доноров с в определяемом фетальным микрохимеризмом, была выявлена тенденция к повышению общей выживаемости ($p = 0,14$). Тем не менее, мы не наблюдали каких-либо значимую связь между уровнем микрохимеризма (фетального и материнского) и вероятностью развития хронической РТПХ, а также каких-либо различий в течении посттрансплантационного периода у реципиентов с обнаруживаемым материнским микрохимеризмом.

Оценка фетального микрохимеризма может быть рассмотрена в качестве одного из факторов при выборе гаплоидентичного донора и подборе оптимального способа профилактики острой РТПХ.

Актуальные вопросы преподавания генетики в медицинском вузе

Барышникова Н.В.¹, Билева Д.С.¹, Дадали Е.Л.^{2,1}, Константинова Л.М.², Ситников В.Ф.¹, Куцев С.И.^{2,1}

¹ ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава России, 117997, Москва, Островитянова, 1
nbaryshnik73@yandex.ru

² ФГБНУ «МГНЦ», 115478 г. Москва, ул. Москворечье, 1

Угруппированная группа специальностей — ЗДРАВООХРАНЕНИЕ — является одной из наиболее обширных, особенно на уровне подготовки кадров высшей квалификации. Разнонаправленная подготовка специалистов медиков, с одной стороны, и возрастающая необходимость использования геномных технологий во всех областях медицины (в том числе в повседневной врачебной деятельности) — с другой, а также реализация принципа Г. Фанкони «...редкие болезни редки до тех пор, пока они мало известны врачам...», обуславливают актуальность преподавания генетики студентам медицинских вузов и уже дипломированным врачам.

Современные ФГОС предусматривают достаточный объём вариативной части, позволяющий учитывать и возможности вуза, и реализацию права выбора студента, и потребности работодателя. Это открывает возможности для определённой унификации знаний по ряду предметов, в том числе по общей и медицинской генетике. Таким образом, кроме преподавания различных разделов генетики, как это было в ГОС, появляется возможность ввести вузовский компонент за счёт консолидации разрозненных разделов в единую дисциплину по аналогии с программами для медико-биологических специальностей медицинских вузов. При подготовке врачей-специалистов в клинической ординатуре в учебном плане следовало бы предусмотреть в качестве одного из компонентов обязательных дисциплин раздел «наследственная патология» в конкретно изучаемой области медицины.

Обучение в ординатуре по специальности «Генетика» должно учитывать базовую подготовку, так как оно предусмотрено для лиц, получивших высшее образование по специальностям лечебное дело, педиатрия и медицинская биохимия. Разработка методов терапии наследственной патологии и необходимость их реализации обуславливают также необходимость усилить общую клиническую подготовку врачей-генетиков в клинической ординатуре: врач-генетик должен быть готов не только выявлять и диагностировать наследственную патологию, но и проводить терапевтические мероприятия, оценивая их эффективность, что требует навыков ведения больных как в амбулаторно-поликлинической практике, так и в условиях стационара.

Данные предложения сформулированы в процессе преподавания студентам ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России и в результате анализа подготовки выпускников в клинической ординатуре по специальности «Генетика».

Дыхательные дистресс-синдромы детского возраста, обусловленные генетической патологией

Баязутдинова Г.М., Забненкова В.В., Дадали Е.Л., Поляков А.В.

ФГБУ «МГНЦ» РАМН, 115478, Москва, Москворечье, д. 1; info@dnalab.ru

Респираторный дистресс-синдром в детском возрасте является одной из самых тяжёлых проблем, с которой приходится

сталкиваться врачам. При развитии дыхательной недостаточности ребёнок быстро оказывается в реанимации. Времени и возможностей на постановку верного диагноза практически не остается. Поэтому проблема диагностики дыхательных дистресс-синдромов детского возраста требует создания чёткого алгоритма. Генетически обусловленные дистресс-синдромы можно разделить на следующие группы: патология лёгких (нарушение метаболизма сурфактанта, первичная цилиарная дискинезия и др.), центральной нервной системы (синдром центральной врождённой гиповентиляции), нервно-мышечные заболевания (проксимальная спинальная мышечная атрофия, дистальная спинальная мышечная атрофия с параличом диафрагмы SMAD1, миастения, немалиновая миопатия, нервно-мышечная сенсорная нейропатия (EGR2, MPZ) и др.), наследственные болезни обмена (болезнь Помпе, синдром Ли и др.). Наиболее частой причиной развития дистресс-синдромов являются именно нервно-мышечные патологии, поскольку распространённость данных заболеваний достаточно высока. При постановке диагноза в первую очередь необходимо обратить внимание на возраст начала. Дыхательная недостаточность, вызванная патологией дыхательной системы, как правило, является врождённой. Рентгенологическое исследование также может помочь выявить патологию лёгких и оценить состояние диафрагмы (куполообразное стояние при SMAD1). Для выявления нервно-мышечной патологии в обязательном порядке необходимо провести электромиографическое исследование, чтобы определить уровень поражения. Наличие переносных аппаратов ЭНМГ позволяет осуществить эту процедуру даже в условиях реанимации. Необходимо определить уровень КФК, для исключения миастении провести тест с прозергином. Нами составлен алгоритм клинической и молекулярной диагностики генетически обусловленных дыхательных дистресс-синдромов в детском возрасте.

Изучение эпилептических энцефалопатий высокопроизводительным секвенированием панели генов

Беленикин М.С., Жилина С.С., Мутовин Г.Р., Айвазян С.О., Притыко А.Г.

ГБУЗ Научно-практический центр медицинской помощи детям ДЗ г.Москвы, 119620, Москва, ул.Авиаторов, д.38. E-mail: genetics.npcmpd@gmail.com

В процессы эпилептогенеза вовлечено большое число генов. Наиболее информативным и экономически целесообразным является изучение целевых наборов генов при обследовании сфокусированных групп пациентов. В данном исследовании с помощью высокопроизводительного секвенирования мы изучали гены, которые, по данным литературы, ассоциированы с эпилептической энцефалопатией. Особое внимание уделено пациентам первых лет жизни с эпилептической энцефалопатией, резистентной к антиэпилептическим препаратам. Задача исследования заключалась в оценке структуры распределения найденных мутаций по генам, а также поиск неописанных в базах данных миссенс-мутаций с целью их дальнейшего изучения. Всего было обследовано 90 чел., включая контроли. Выделение геномной ДНК проводили с использованием протокола выделения на магнитных частицах на станции MagNA Pure LC 2.0, отбор белок-кодирующих областей проводили с помощью набора олигонуклеотидных зондов NimbleGen, секвенирование — с помощью секвенатора Roche 454 GS Junior. Все этапы пробоподготовки и секвенирования проводили в соответствии с протоколами производителя оборудования и реагентов. Наибольшее число вариантов было найдено в гене *SCN1A* — 10 (15 чел.), из них 3 — нонсенс-мутации; по 9 из 10 найденных вариантов информация в базе данных NCBI отсутствует, у описанного варианта частота минорного аллеля 0,1%. Структура находок в других генах (указаны только миссенс-мутации

с частотой минорного аллеля менее 0,5%): *SCN1B* — 1 (3 чел.), *SCN2A* — 2 (2 чел.), *SCN9A* — 1, *NRXN1* — 4 (8 чел.), *ZEB2* — 1 (2 чел.), *TREX* — 1, *CNTNAP2* — 2 (3 чел.), *DLGAP* — 5 (6 чел.), *SPTAN1* — 2 (2 чел.), *GRIN2A* — 4 (4 чел.), *GRIN2B* — 1, *RNASEH2A* — 1, *RNASEH2B* — 2 (3 чел.), *CDKL5* — 1, *PCDH19* — 1, *UBE3A* — 1 (2 чел.). Информация о половине найденных вариантов отсутствует в NCBI.

Информация о регионах, содержащих приводящие к миссенс-мутациям замены будет использована при последующих оптимизациях набора генов.

Работа проведена при финансовой поддержке Департамента здравоохранения г.Москвы.

Геномные маркёры для формирования групп риска по развитию гестоза во второй половине беременности

Беличенко Н.И.¹, Александрова А.А.¹, Гуськов Г.Е.¹, Рымашевский²

¹ Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону
belichenkonina@mail.ru

² Ростовский государственный медицинский университет

Во всем мире одной из первоначально значимых задач акушерско-гинекологической службы является снижение рисков перинатальной заболеваемости и смертности. Гестоз второй половины беременности до настоящего времени остается одной из самых актуальных проблем современного акушерства. По данным ВОЗ, гестозы являются основной причиной перинатальной заболеваемости и смертности.

Исследовали SNP-полиморфизмы, ассоциированных с развитием гестоза, основываясь на наших собственных исследованиях (400 женщин с физиологической беременностью, и более 200 женщин с гестозом) и мировых научных данных. Гены матери и их полиморфизмы, ассоциированные с развитием гестоза, условно подразделялись нами на следующие группы:

1) Гены факторов свертывания крови: протромбина (*F II*, *PTM*): G 20210A; проакцелерина (*F V*): G1691A; β-фибриногена: G455A;

2) Гены дисфункции эндотелия: ангиотензиногена (*AGT*): M235T и T174M; гликопротеина Ia (*GPIa*): C807T; гликопротеина IIIa (*GPIIIa*): C1565T; ингибитора тканевого активатора плазминогена-1 (*PAI-1*): 675 4G→5G; тканевого активатора плазминогена (*PLAT*): 4G/5G в промоторе гена.

3) Гены дисфункции эндотелия: ангиотензиногена (*AGT*): M235T и T174M; гликопротеина Ia (*GPIa*): C807T; гликопротеина IIIa (*GPIIIa*): C1565T; ингибитора тканевого активатора плазминогена-1 (*PAI-1*): 675 4G→5G; тканевого активатора плазминогена (*PLAT*): 4G/5G в промоторе гена.

Статистический анализ позволил предложить нам модель прогноза. Наибольшее клиническое значение имеет гомозиготность по полиморфизму коагуляционных факторов FV и FII. Гетерозиготность по данным полиморфизмам, а также гомозиготность по полиморфизму C677T *MTHFR* привносит по 3 балла риска. Для прогноза осложнений беременности по результатам генетического обследования необходимо оценить риск развития гестоза по балльной шкале (в группу высокого риска входят женщины с четырьмя баллами и выше, умеренного риска — с 2—3 баллами, на низкий риск указывает наличие 0—1 балла). Помимо общей оценки риска данная система позволяет обратить внимание врача на генетически возможно ослабленные системы метаболизма (систему свертывания крови, систему фолатного цикла и/или систему регуляции артериального давления) и определить профилактические и/или лечебные мероприятия.

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках базовой части государственного задания в сфере научной деятельности №1878 «Разработка фундаментальных аспектов молекулярной диагностики и митохондриальной фармакологии».

Современные стратегии идентификации генов, контролирующих распространенные заболевания человека

Белоногова Н.М.

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

Несмотря на значительный прогресс в области поиска генетических факторов формирования предрасположенностей к распространённым заболеваниям человека, наследуемость этих признаков в основном остается неразгаданной. При этом использование традиционных методов генетического картирования со временем становится всё менее эффективным. На современном этапе оптимальная стратегия поиска генов предполагает учёт основных актуальных факторов повышения эффективности генетического картирования, к числу которых относятся:

- увеличение статистической мощности в условиях всё возрастающей ресурсоемкости исследований, требующих анализа десятков и сотен тысяч генотипированных и фенотипированных индивидов;
- анализ редких генетических вариантов, составляющих огромную часть генетического разнообразия;
- анализ неаддитивных моделей наследования.

Реализация этих направлений предполагает использование новых возможностей, доступных современным исследователям, таких, как ресеквенирование экзонов и новые качественные методы их обработки, а также наличие обширных и пополняющихся биоинформатических баз данных. Методы регионального анализа ассоциаций, разработанные в последние несколько лет, позволяют анализировать редкие генетические варианты с высокой статистической мощностью. Привлечение биоинформатических данных не только повышает эффективность генетического картирования, но также является необходимым условием продуктивности анализа неаддитивных моделей наследования. Эти меры позволяют до некоторой степени снизить жесткие количественные требования к объемам выборки, а также преодолеть ряд качественных ограничений современного генетического картирования.

Роль полиморфизма генов цитокинов и риск развития осложнений при нозокомиальной пневмонии

Белопольская О.Б.¹, Смелая Т.В.^{2,3}, Шаршавых М.В.³, Сальникова Л.Е.¹

¹ ФГБУН ИОГенРАН
119991, ГСП-1 ул. Губкина, д.3, Москва, Россия

² ФГБУ «НИИОР»
107031, ул. Петровка, д. 25, стр.2, Москва, Россия

³ ГВКГ ВВ МВД РФ,
143915, микрорайон Никольско-Архангельский, Вишняковское ш., вл. 101, г. Балашиха, Московская обл., Россия

Познание генетических особенностей организма необходимо для разработки концепции индивидуализации диагностики, лечения и профилактики развития осложнений при нозокомиальной пневмонии (НП). Было исследовано 430 пациентов, госпитализированных в отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) с разнообразными патологиями (травмы, ранения, обширные хирургические вмешательства). У 275 больных развилась НП. На эту группу пришлось более 95% случаев сепсиса, острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) и летального исхода. Был проведен анализ роли полиморфных вариантов генов противо- (*IL4*, *IL10*, *IL13*) и провоспалительных (*IL1B*, *IL6*, *IL8*) цитокинов в связи с риском развития осложнений вплоть до критических состояний у больных в ОРИТ. Сниженный риск развития сепсиса имели носители аллелей, сопряженных с повышенной продукцией провоспалительных цитокинов.

тельных цитокинов: *IL1B* rs16944 G/A-A/A ($p = 0,014$, OR = 0,27, 95%ДИ 0,08—0,92) и *IL8* rs4073 T/A-A/A ($p = 0,0023$, OR = 0,44, 95%ДИ 0,26—0,75). Меньший риск летального исхода имели пациенты с *IL1B* rs16944 G/A-A/A генотипом ($p = 0,0019$, OR = 0,41, 95%ДИ 0,23—0,73). Развитие ОРДС было менее вероятно у носителей аллелей, увеличивающих секрецию противовоспалительных цитокинов: *IL4* rs2243250 C/T-T/T ($p = 0,010$, OR = 0,48, 95%ДИ 0,27—0,86) и *IL13* rs20541 C/T-T/T ($p = 0,0089$, OR = 0,55, 95%ДИ 0,35—0,88).

Развитие сепсиса связано с нарушением баланса противо- и провоспалительных цитокинов. Недостаточно эффективная продукция провоспалительных цитокинов сопряжена с недостаточной активацией защитных систем организма, быстрым накоплением инфекционных патогенов и прогрессированием воспаления. Защитный эффект генотипов, ассоциированных с повышенной секрецией провоспалительных цитокинов, относительно сепсиса (*IL8* и *IL1B*) и летальности (*IL1B*), представляется биологически оправданным. По данным литературы, противовоспалительные цитокины (в том числе *IL4* и *IL13*) могут защищать от острого повреждения лёгких (первой стадии ОРДС). Нами показан протективный эффект аллелей, сопряжённых с повышенной продукцией этих цитокинов, относительно риска развития ОРДС. Полученные результаты коррелируют с данными литературы и могут быть использованы для персонализированного подхода к ведению пациентов с НП.

Технология тандемной масс-спектрометрии в неонатальном и селективном скрининге наследственных болезней обмена

Беляева Т.И., Никитина Н.В., Ворошнин В.В., Николаева Е.Б., Лобанова А.В., Иванова Т.А., Тарасевич Т.А., Прокофьева О.В.

ГБУЗ Свердловской области «Клинико-диагностический центр «Охрана здоровья матери и ребёнка», 620067, г. Екатеринбург, ул. Флотская, 52, neolab@e1.ru

С 2011 г. технология тандемной масс-спектрометрии (ТМС) используется в неонатальном и селективном скрининге детей Свердловской области. За этот период времени не удалось охватить в непрерывном режиме всех новорождённых, поэтому выявленная патология не отражает истинную частоту заболеваний. Селективный скрининг осуществлялся по направлению врачей-генетиков Центра.

В таблице приведены результаты обследования детей методом ТМС (25 ФКУ в этот период также выявлены этим методом).

2011—2014 гг.	Обследовано	Выявлено патологии
Неонатальный скрининг	153 346	1 — глутаровая ацидурия I типа 1 — лейциноз 1 — пропионовая ацидемия 1 — недостаточность трифункционального белка 1 — недостаточность среднецепочечной ацил-КоА-дегидрогеназы 1 — цитруллинемия 3 — 3-метилкротонилглицинурия 1 — недостаточность митохондриальной ацетоацетил-КоА тиазолы
Селективный скрининг	1807	1 — недостаточность биотинидазы 1 — метилмалоновая ацидемия 1 — тирозинемия 1 — гомоцистинурия 1 — недостаточность очень длинноцепочечной ацил-КоА-дегидрогеназы 1 — лейциноз 1 — 3-метилкротонилглицинурия

Возможности раннего выявления редких болезней обмена и начала лечения в доклинической стадии значительно расширя-

ются при использовании метода ТМС. Некоторые состояния, особенно дефекты окисления жирных кислот, крайне сложно выявить без неонатального скрининга методом ТМС. Постановка диагноза и начало лечения на доклинической стадии также являются преимуществом метода. Селективный скрининг использовался как добавление к основному скринингу.

Остеолиз карпотарзальный мультицентрический: описание семейного случая

Бёме А.А.^{1,2}, Демикова Н.С.^{1,3}, Асанов А.Ю.²

¹ ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва, 129110, ул. Щенкина, д. 61/2

e-mail: boehme_gen@mail.ru

² ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова

^{1,3} ОСП НИКИ педиатрии ГБОУ ВПО РГМУ им. Н.И. Пирогова МЗ России

Остеолиз карпотарзальный мультицентрический — редкое заболевание из группы скелетных дисплазий с аутосомно-доминантным типом наследования, обусловленное мутациями в гене *MAFB*, локализованном на длинном плече хромосомы 20 (20q12).

В сообщении приводится описание семейного случая данного заболевания в двух поколениях.

Пробанд — девочка 14 лет, от I беременности, протекавшей физиологически, от I оперативных родов (плановое кесарево сечение) в сроке 39—40 недель, масса тела при рождении — 3150 г, рост — 51 см. Раннее физическое, психомоторное и речевое развитие по возрасту. С 3 лет отмечались боли в мелких и крупных суставах нижних конечностей, позже присоединились деформации и укорочение кистей и стоп, контрактуры тазобедренных, коленных суставов. Левосторонний грудопоясничный сколиоз I ст. Гипоплазия кистей и стоп на фоне системного заболевания. На рентгенограмме кистей рук отмечается отсутствие костей запястья, укорочение и деформации костей пясти, деформации суставных поверхностей костей предплечья. Черепно-лицевые особенности включали высокий лоб, выступающий фильтр, ретрогенно, неправильный рост зубов, высокое небо.

У матери пробанда отмечаются выраженные изменения и поражение конечностей: болезненность, деформации и сгибательные контрактуры тазобедренных, коленных, локтевых суставов, выраженная гипоплазия кистей и стоп, укорочение, расширение и деформации пальцев, гипоплазия ногтей пальцев нижних конечностей; лицевые аномалии: высокий лоб, экзофтальм, выступающий фильтр, микрогензия, неправильный рост зубов. С детства катаракта обоих глаз, дистрофия роговицы. Учитывая данные клинико-генеалогического исследования, фенотипические особенности пробанда и матери пробанда, а также представленные результаты обследования, был заподозрен диагноз: остеолиз карпотарзальный мультицентрический (аутосомно-доминантный тип наследования, OMIM 166300).

С целью поиска мутаций в гене *MAFB* была назначена ДНК-диагностика. В результате молекулярно-генетического исследования в гене *MAFB* была выявлена мутация с.188C>G (p.Pro63Arg) в гетерозиготном состоянии, что подтверждает диагноз.

Популяционно-генетический анализ генов предрасположенности к преэклампсии в казахской популяции

Березина Г.М., Святова Г.С.

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

Целью исследования было изучение популяционных частот полиморфизмов генов альдостерон-ренин-ангиотензиновой системы: *ACE* (I / D) и *AGTR1* (A1166C); дисфункции эндоте-

лия *eNOS3* (4b / 4a), липидного метаболизма *ApoE* (Cys112Arg и Arg158Cys) и *ApoC3* (G5163C), связанных с развитием преэклампсии. Молекулярно-генетический анализ полиморфизмов генов был проведен методом ПЦР в режиме реального времени в группе 300 женщин казахской национальности популяционного контроля.

Молекулярно-генетические исследования гена *ACE* у казахской контрольной группы выявили следующие частоты генотипов: гомозиготы (I/I) — 40,7%, гетерозиготы (I/D) — 53,7%, гомозиготы по аллелю D (D/D) составили 5,7%. Аллель I (67,5%) значительно превалирует над аллелем D (32,5%). По полиморфизму A1166C гена *AGTR1* благоприятный генотип (AA) встретился с частотой 72,7%, частота гомозигот по С аллелю (CC) составила 2,0%, частота гетерозигот (CT) — 22,3%. Частота встречаемости аллеля А гена *AGTR1* превалирует над частотой аллеля С более чем в 5 раз (86,8% и 13,2% соответственно).

Генотип 4a/4a гена эндотелиальной дисфункции *eNOS3* имел место у 6,7%, 4a/4b — у 21,0%, а 4b/4b — у 72,3% обследованных. Частота аллеля 4a представлена в 17,2%, а частота аллеля 4b — в 82,8% случаев.

В гене аполипопротеина С3 выявили следующие частоты генотипов: гомозиготы (CC) — 40,67%, гетерозиготы (GC) — 54,33%, гомозиготы по аллелю G (GG) — 5,0%. Аллель С (67,83%) превалирует над аллелем G (32,17%). Генотип (E3E3) гена *ApoE* встретился с частотой 69,67%, частота гетерозигот E2E3 — 2,67%, E2E4 — 2,0%, E3E4 — 22,0%; гомозиготы по неблагоприятному аллелю E4E4 — 3,0% и гомозиготы E2E2 — 0,67%. Частота аллеля E3 (82,0%) значительно превалирует над аллелем E2 (3,0%) и E4 (15,0%).

Диагностика частых микроделеционных синдромов методом количественного MLPA анализа

Бескоровая Т. С., Поляков А. В.

ФГБНУ «МГНЦ», Москва, ул. Москворечье, д. 1;
t-kovalevskaya@yandex.ru

Микроделеционные (и микродупликационные) синдромы обусловлены делециями или дупликациями относительно небольших участков хромосом, размер которых не превышает 5 млн п.н. Данные хромосомные аномалии невозможно увидеть с помощью микроскопа и невозможно определить стандартными методами ПЦР-диагностики. Существует несколько подходов детекции микроделений — косвенная диагностика с помощью STR-маркёров, FISH метод, метод CGH. Однако они обладают рядом недостатков. В частности, для косвенной диагностики необходимо наличие образцов ДНК родителей, что зачастую невозможно. Метод FISH довольно дорог и к тому же не дает такого разрешения, какое можно получить методом количественного MLPA анализа. В частности с помощью данного метода можно обнаружить делецию или дупликацию не только гена или нескольких генов, но и делецию/дупликацию отдельных экзонов или даже, при наличии нескольких проб внутри экзона, его части. Недостатком этого метода можно считать высокие требования к качеству ДНК. В лаборатории ДНК-диагностики с помощью коммерческих наборов фирмы «MRC-Holland» для количественного MLPA анализа проводится диагностика таких микроделеционных синдромов, как синдром Вильямса—Бойрена, синдром Миллера—Дикера, синдром Рубинштейна—Тейби, синдром Смит—Магенис, синдром Потоцки—Лупски и др. У 11 пациентов с направляющим диагнозом синдром Вильямса—Бойрена (37,9%) нами была выявлена делеция локуса 7q11.23 в гетерозиготном состоянии, а также выявлена дупликация экзона 1 гена *ELN* у одной пациентки с направляющим диагнозом «надклапанный стеноз аорты». У одного больного из 19 с направляющим диагнозом синдром Миллера—Дикера была обнаружена протяжённая делеция, включающая ген *PAFANI1* и у одного больного была выявлена делеция экзона 9 гена *PAFANI1* в гетерозиготном со-

стоянии. У одного пациента из 20 была обнаружена делеция экзонов 4—31 гена *CREBBP* в гетерозиготном состоянии, мутации в котором ответственны за развитие синдрома Рубинштейна—Тейби. Случаи, когда диагноз не подтверждается, могут быть объяснены сложностью дифференциальной диагностики данных заболеваний, и рядом других причин. Например, синдром Миллера—Дикера, обусловленный делецией генов локуса 17p13.3 трудно клинически дифференцировать от изолированной лисэнцефалии, обусловленной точковыми мутациями гена *PAFANI1*. В случае с синдромом Рубинштейна—Тейби, мутации в целом обнаруживаются только у 50—60% больных, а на долю крупных делеций приходится около 10—20%.

Гены тяжёлой цепи иммуноглобулинов и стереотипные рецепторы у больных В-ХЛЛ российской популяции

Бидерман Б. В., Никитин Е. А., Судариков А. Б.

ФГБУ «Гематологический научный центр» Министерства здравоохранения РФ, 125167, Москва, Новый Зыковский пр-д, 4
bella_biderman@mail.ru

В-клеточный хронический лимфолейкоз (В-ХЛЛ) — самая часто встречающаяся лимфатическая опухоль у взрослых. Мутационный статус генов варибельного региона тяжёлой цепи иммуноглобулинов (ИГ) давно известен как важный фактор долгосрочного прогноза при В-ХЛЛ. Рекомбинационное многообразие зрелых ИГ, и последующая соматическая гипермутация определяют ничтожно малую теоретическую возможность получить две независимые В-клетки с одинаковыми рецепторами. Однако начиная с 1990-х годов начали появляться данные о значительном сужении репертуара перестроенных генов ИГ при ХЛЛ по сравнению с нормальными В-лимфоцитами. По мере того, как накапливались большие массивы данных о последовательностях перестроенных генов ИГ, ученые Европы и США стали чаще обнаруживать схожие рецепторы В-клеток в различных независимых случаях ХЛЛ. В настоящее время показано, что около 30% всех случаев В-ХЛЛ имеют рецепторы ИГ с очень схожими нуклеотидными последовательностями. Такие квазиидентичные рецепторы называют стереотипными. Необходимо отметить, что репертуар стереотипных рецепторов у больных В-ХЛЛ существенно различается в разных странах. До последнего времени соответствующие данные о российской популяции не были представлены.

Мы проанализировали и сравнили последовательности генов тяжёлых цепей ИГ более 500 пациентов В-ХЛЛ. Полученные нами данные подтвердили и расширили представления о существующих закономерностях репертуара IgVH при В-ХЛЛ. Так, согласно нашим результатам, подтверждается, что 10 наиболее распространённых VH-генов встречаются у 62% всех пациентов В-ХЛЛ. Однако при этом в России ген VH1-69 встречается в 20% всех случаев В-ХЛЛ, в то время как в европейских странах его встречаемость не превышает 14%.

Сужение репертуара ИГ при В-ХЛЛ показывает, что возникновение и развитие данного заболевания является неслучайным, и, возможно, в будущем терапевтические решения будут базироваться не только на основании мутационного статуса, но также и на индивидуальных характеристиках рецепторов В-клеток.

Ассоциативный анализ делеционных полиморфизмов генов *GSTT1*, *GSTM1* у больных с нарушениями мозгового кровообращения

**Бисултанова З. И., Джамбетова П. М.,
Бисултанова З. Р., Юсупова М. М.**

Чеченский государственный университет,
г. Грозный, ул. Шерипова, 32. E-mail: zura_sun@mail.ru

Несмотря на серьёзные изменения в понимании патогенеза инсультов, специфики их проявления, нарушения мозгового кровообращения продолжают оставаться серьёзной медицинской проблемой социального характера. По данным ВОЗ, инсульты являются ведущей причиной инвалидизации у взрослого населения, и за последнее десятилетие стали одной из основных причин смерти. Кроме того, ряд исследователей отмечают наметившееся в последнее время «омоложение» нарушений мозгового кровообращения.

Эпидемиологические исследования показали, что основную роль в возникновении проблем с кровоснабжением головного мозга человека могут играть социальные факторы. Отмечено, что у населения Чеченской Республики (ЧР), которое более 15 лет в период локальных боевых действий подвергалось воздействию мощных стрессовых и неблагоприятных экологических и социально-экономических факторов, инсульты случаются в 2 раза чаще, чем в целом по России.

В большинстве случаев основной причиной инсульта является атеросклероз, главную роль в развитии которого играет окислительный стресс. В норме самопроизвольное аутоокисление клеток нейтрализуется сложной системой антиоксидантной защиты, эффективность работы которой определяется индивидуальными генетическими особенностями организма.

Исследована роль полиморфных вариантов по делеции генов *GSTT1*, *GSTM1*, кодирующих часть ферментов системы антиоксидантной защиты клетки, в нарушениях мозгового кровообращения у больных чеченской популяции ($n = 102$). В результате обнаружен повышенный уровень нулевых генотипов *GSTT1* и *GSTM1* у больных, перенесших инсульт по сравнению с контрольной группой. Частоты гомозигот по делециям генов *GSTT1* и *GSTM1* среди больных составили 23,16% и 65,26%, соответственно, тогда как в группе контроля частота гомозиготного по делеции генотипа *GSTT1* составила 14,29%, аналогичный генотип *GSTM1* у здоровых лиц встречается с частотой 53,97%. Поиск взаимодействия между носительством делеции генов ферментов детоксикации продуктов аутоокисления клетки и возникновением нарушений мозгового кровообращения показал, что наличие делеции в генах *GSTT1* и *GSTM1* приводит к увеличению риска развития инсультов (соответственно $OR = 1,81$, $OR = 1,60$).

Уникальная делеция генов коннексинов 26 и 30 — самая частая протяжённая делеция при несиндромальной сенсоневральной тугоухости в России

Близнец Е.А.¹, Макиенко О.Н.¹, Окунева Е.Г.¹, Маркова Т.Г.², Дибирова Х.Д.¹, Балановский О.П.¹, Поляков А.В.¹

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва

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

Наследственная тугоухость с аутосомно-рецессивным типом наследования генетического типа DFNB1, обусловленная мутациями в гене *GJB2*, является главной причиной врождённого несиндромального нарушения слуха в большинстве развитых стран мира, в том числе в России. Среди дефектов гена *GJB2* преобладают внутригенные точковые мутации. Из более 300 мутаций, выделяются несколько наиболее часто встречающихся мутаций. Наряду с внутригенными мутациями в отдельных популяциях, например, Испании, Великобритании, Франции, США, Бразилии, со значительной частотой встречаются и протяжённые делеции в локусе DFNB1, повреждающие *cis*-регуляторную область гена *GJB2*. Среди четырёх известных протяжённых делеций только одна затрагивает непосредственно последовательность гена *GJB2*, и описана в единственной семье.

В данной работе обнаружена и описана новая протяжённая делеция последовательности генов *GJB2* и *GJB6* размером ~101 тыс.п.н. (NC_000013.10: g.20,757,021_20,858,394del). Показано ингушское происхождение данной мутации, выявлена значительная частота гетерозиготного носительства новой делеции среди ингушей и чеченцев. У российских пациентов с тугоухостью делеция ~101 тыс.п.н. встречается чаще других известных протяжённых делеций в локусе DFNB1, и данный дефект не детектируется применяемыми сегодня методами поиска мутаций при наследственной тугоухости. Поэтому прицельное тестирование пациентов на наличие новой делеции является очень важным этапом молекулярного исследования для медико-генетического консультирования семей с наследственным нарушением слуха.

Атипичный синдром Ретта, впервые диагностированный у взрослой больной

Бобылова М.Ю.¹, Бабенко О.В.², Руденская Г.Е.²

¹ Институт детской неврологии и эпилепсии им. Святого Луки, Москва

² mariya_bobylova@mail.ru

² ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Москва

Синдром Ретта (СР) — относительно частое, тяжёлое психоневрологическое расстройство раннего возраста, связанное с мутациями гена *MeCP2* в локусе Xq28. Наследование X-сцепленное доминантное, болеют исключительно девочки (мужские фенотипы при мутациях *MeCP2* отличаются от СР). Типичные случаи в основном диагностируют на ранних стадиях. При атипичных фенотипах диагностика затруднена. Случаи, не выявленные в детстве, чаще остаются нераспознанными и в старшем возрасте. Мы диагностировали СР у больной 21 года с прежним диагнозом *шизофрения*. У девочки с неотягощённой наследственностью в срок сформировались фразовая речь, навыки общения, самообслуживания. С 3 лет появились умеренные расстройства поведения: гиперактивность, расторможенность, навязчивость в общении с взрослыми (избегала общения с детьми), стереотипные действия (накручивание волос на палец), эхолалии. В первые годы болезни снижение интеллекта было неглубоким, сохранялась экспрессивная речь (отмечалась чрезмерная «говорливость»). В 6 лет диагностировали *шизофрению*. В дальнейшем постепенно развивалась выраженная деменция с утратой речи (но эхолалией), навыков самообслуживания; стереотипии трансформировались в типичные для СР «прихлопывания». Также в течение нескольких лет сформировался паркинсоноподобный синдром (не медикаментозный!). Посещала коррекционную школу. Эпилептических приступов, эпизодов гиперпноэ нет. Бывают страхи, эпизоды возбуждения. МРТ в детстве без патологии. Соматически здорова. При осмотре отмечены: низкий рост 150 см, микроцефалия 52 см, кифосколиоз; гиперрефлексия, гипомимия, выраженный акинетико-ригидный синдром, паркинсоническая походка, постоянные стереотипии, практическое отсутствие контакта. Предположенный СР подтвержден анализом ДНК: в гене *MeCP2* найдена ранее описанная мутация — делеция со сдвигом рамки считывания c.1157_1200del44 (p.Leu386Fs). Атипичны длительный период регресса в начале болезни (в «классическом» варианте — месяцы или даже недели) и паркинсонизм (для стадии двигательных расстройств при СР характерны спастичность, дистония). В течение ряда лет болезнь протекала под маской *шизофрении*. Известны гено-фенотипические корреляции при СР, в частности, описаны мутации, ассоциированные с относительно медленным, аутистическим течением, но мутация, найденная у больной не входит в их число.

Разработка модульных пептидных носителей для направленной доставки генетических конструкций в клетки человека

Богачева М.С., Слита А.Н., Егорова А.А., Киселев А.В.

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

Актуальной проблемой генной терапии является создание эффективных систем направленной доставки ДНК в клетки. Основные преимущества невирусных носителей — это неиммуногенность, биodeградируемость, простота синтеза и модификаций. Для адресной доставки ДНК нами разработаны модульные пептидные носители, модифицированные лигандом рецептора CXCR4 и сигналом ядерной локализации. В их состав были включены остатки цистеина для образования межпептидных сшивок и остатки гистидина для придания эндосомотических свойств. CXCR4 — хемокиновый рецептор стромального фактора CXCL12 (SDF-1) — представлен на поверхности некоторых типов клеток, включая метастазирующие раковые и мигрирующие стволовые клетки. Сигнал ядерной локализации большого Т-антигена вируса SV40 способствует доставке ДНК в ядро через ядерные поры. Целью данной работы было изучение самосшивающихся пептидов, модифицированных лигандом рецептора CXCR4 и сигналом ядерной локализации большого Т-антигена вируса SV40 для адресной доставки ДНК в клетки, содержащие рецептор CXCR4.

Исследованы 8 типов комплексов ДНК/носитель, содержащих разные количества лигандных и сигнальных молекул. Были изучены способность носителей к связыванию ДНК и защите её от нуклеазной деградации, а также динамика формирования комплексов и дисульфидных связей, устойчивость к полианионам, измерены размеры и дзета-потенциал комплексов. Эффективность трансфекции исследовали на трёх линиях клеток с разным содержанием CXCR4 на поверхности и на мезенхимных стволовых клетках человека. Оценены токсические свойства комплексов с помощью теста AlamarBlue. Изучена специфичность проникновения комплексов с помощью антагониста AMD3100, блокаторов клеточного цикла на стадии G1 и клатрин-зависимого эндоцитоза. Исследована локализация доставленной в клетки плазмидной ДНК методом конфокальной микроскопии.

Установлено, что все изучаемые носители способны защищать ДНК от нуклеазной деградации после завершения комплексообразования. Модификация носителей сигналом ядерной локализации и лигандом рецептора CXCR4 увеличивает трансфекционную активность комплексов ДНК/носитель, а также способствует трансфекции стволовых клеток. В большинстве случаев, токсичность комплексов ДНК/носитель ниже токсичности ДНК с контрольным носителем полиэтиленгликолем. Показана специфичность проникновения комплексов с носителями, содержащими лиганд рецептора CXCR4 в клетки. Продемонстрирована способность носителей с сигналом ядерной локализации доставлять ДНК в ядро через комплексы ядерных пор при остановке клеточного деления. Таким образом, модификация пептидов лигандом рецептора CXCR4 и сигналом ядерной локализации большого Т-антигена вируса SV40 позволяет получить перспективные невирусные носители для направленной доставки нуклеиновых кислот в раковые и стволовые клетки.

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

Изучение связи полиморфизмов гена глутаматцистеинлигазы с развитием аллергического ринита у детей

Богомазов А.Д., Быканова М.А., Солодилова М.А., Полоников А.В.

Курский государственный медицинский университет, г.Курск, ул. Карла Маркса, д.3, medbiol@kursknet.ru

Аллергический ринит (АР) — распространённое заболевание слизистой оболочки носа, которое встречается у населения РФ с частотой 18—38%. В основе возникновения заболевания лежат аллергические реакции немедленного типа в ответ на контакт с аллергеном. По своей природе АР представляет собой мультифакториальное полигенное заболевание. Учитывая значимую роль окислительного стресса в формировании аллергических заболеваний, гены ферментов антиоксидантной системы могут выступать как значимые модификаторы предрасположенности к АР. Изучена связь полиморфизмов гена одного из ключевых ферментов метаболизма глутатиона — глутаматцистеинлигазы, состоящей из двух субъединиц — регуляторной (GCLM) и обеспечивающей каталитическую активность фермента (GCLC) в формирование наследственной предрасположенности к АР. На базе областной детской клинической больницы было обследовано 77 детей, больных АР, и 84 здоровых ребёнка русской национальности, проживающих на территории Курской области. Генотипирование образцов ДНК детей по полиморфизмам -588C>T (rs41303970) гена *GCLM* и -129C>T (rs17883901) гена *GCLC* проводилось методом ПЦР в режиме реального времени путём дискриминации аллелей с помощью TaqMan-зондов. Распределения генотипов соответствовали равновесию Харди—Вайнберга для обоих исследованных полиморфизмов. Частоты генотипов CC, CT и TT полиморфизма -588C>T гена *GCLM* были следующими: 68,8%, 24,7% и 6,5% у больных АР, 65,5%, 23,8% и 10,7% у здоровых детей. Частоты генотипов CC, CT и TT полиморфизма -129C>T гена *GCLC* были следующими: 80,0%, 20,0% и 0% у больных АР, 84,6%, 12,3 и 3,1% у здоровых детей. Анализ ассоциации парных сочетаний генотипов полиморфных вариантов генов *GCLM* и *GCLC* также не выявил статистически значимых различий между группами ($p>0,05$). Таким образом, полиморфизмы -588C>T гена *GCLM* и -129C>T гена *GCLC* не оказывают влияния на риск развития АР у детей в Курской области.

Особенности создания биобанка ДНК малых популяций (на примере народов Амура)

Богун Ю.В.¹, Богунова А.А.², Каменщикова Е.Н.², Балановский О.П.¹

¹ *Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, 119991, Москва, ул. Губкина, 3*

² *Амурский гуманитарно-педагогический государственный университет, 681000, Комсомольск-на-Амуре, ул. Кирова, 17, forbogunov@inbox.ru*

Значительный прогресс в разработке методов и снижении стоимости генотипирования популяционных образцов (однородительские нерекombинирующие генетические системы, полнохромосомное и полногеномное секвенирование) стимулировал создание биобанков, представляющих популяции всех континентов. Однако научная «отдача» биобанков целиком определяется качеством отбора изучаемых популяций и индивидов, эти популяции представляющих. Для решения практически любых фундаментальных и прикладных задач эффективность биобанка зависит от степени учёта истории формирования популяции, а также объёма и точности информации об обследованном индивиде.

При этом особое значение имеет включение в биобанки малочисленных этносов, представленных одной-двумя популяциями, общей численностью от нескольких сотен до нескольких тысяч человек. Их исключительная ценность для биобанков связана с тем, что именно малочисленные этносы позволяют оценить спектр и размах видовой разнообразия человека и его адаптивные возможности. Однако многие такие этносы,

исчезающие на глазах современников, не представлены в биобанках или же представлены крайне фрагментарно и потому неинформативно.

В длительно существующей изолированной малочисленной популяции основная часть населения представлена родственниками, которые объединяются в несколько крупных родоплеменных линий. Поэтому тщательный сбор генеалогических данных и учёта родовой организации является обязательным требованием для формирования биобанка.

Высокая доля межэтнических браков последних лет требует чётких критериев отбора коренного населения. Поэтому биобанк народов Амура создан на основе тщательного отбора популяций и участников, с привлечением большого объёма демографической, генеалогической, этнографической и антропологической информации (включая фотопортреты обследуемых, количественное измерение цвета кожи) и т.д. Это позволило использовать его при изучении генетической истории населения, выявлении генетических факторов риска и адаптационного потенциала популяций.

Работа поддержана грантами РФФИ: 14-06-00384, 14-06-10026

Влияние различных генетических факторов на количество активных рибосомных цистронов у больных с патологией лёгких

Болдинова Е.О., Трубникова Е.В., Белоус А.С., Иванов В.П., Лебедев А.Ю., Локтионов А.В.

Курский государственный университет, г. Курск, ул. Радищева, д. 33

Курский государственный медицинский университет, г. Курск, ул. К. Маркса, 3; lizaboldinova@yandex.ru

У больных с лёгочной патологией ($n = 185$) изучено влияние основных показателей комплекса функциональной активности рибосомных генов, а также парных сочетаний полиморфизмов генов факторов транскрипции рибосомных генов и ферментов детоксикации на показатели количества активных рибосомных цистронов (РЦ).

Объектом исследования послужили цитогенетические препараты лимфоцитов периферической крови, окрашенные нитратом серебра. За «активный РЦ» принималась акроцентрическая хромосома с хорошо визуализируемым преципитатом восстановленного серебра.

Средний показатель количества активных РЦ составил $8,76 \pm 0,64$ (95% CI 8,65—8,87), незначительно отклонялся от медианного показателя ($Me = 8,80$, $Q25 = 8,30$, $Q75 = 8,80$) и статистически значимо отличался от количества активных РЦ в контрольной выборке по Курской области ($Z = 2,36$, при $p = 0,001$). Минимальное количество РЦ составило 6,90, а максимальное 10,0. Корреляционный анализ по Спирману позволил выявить статистическую взаимосвязь ($p < 0,05$) количества активных РЦ с общим уровнем функциональной активности рибосомных генов ($R = 0,58$).

Для выборки больных с патологией лёгких значимыми сочетаниями оказались две комбинации полиморфизма гена белка р53: Trp53 R72P / ERHX1 Y113N ($F(4, 60) = 4,59$, $p = 0,01$) и Trp53 R72P / GSTM1 del/+ ($F(2, 63) = 3,43$, $p = 0,04$). В первом случае объяснённая изменчивость составляла 29%, во втором — лишь 13%, что говорит о наличии других факторов, не включённых в модель.

Отношение родителей больных фенилкетонурией и муковисцидозом детей к пренатальной диагностике

Борзов Е.А.¹, Иванова Л.Ю.², Журавлева И.В.², Ижевская В.Л.¹, Гинтер Е.К.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Медико-генетический научный центр» Российской академии медицинских наук, 115478, Москва, ул. Москворечье, д.1; e-mail izhevskaya@med-gen.ru

² Федеральное государственное учреждение науки «Институт социологии» Российской академии наук 117218, Москва, ул. Кржижановского 24/35, корп.5

Представлены результаты анкетного опроса, позволяющего оценить информированность родителей больных фенилкетонурией (ФКУ) и муковисцидозом (МВ) детей о генетическом риске, пренатальной диагностике и отношении к прерыванию беременности поражённым плодом. В опросе приняли участие 187 матерей больных ФКУ и 93 больных МВ детей. Показано существенное влияние места жительства семьи на возраст установления диагноза и начала лечения, на запоминание значений генетического риска. Доля респондентов, правильно указавших значение повторного риска, была достоверно выше среди жителей мегаполисов и крупных городов, а также среди матерей больных детей, имевших высшее образование. На приемлемость ПД и последующего прерывания беременности поражённым плодом оказывает влияние субъективная оценка обременительности терапии. Понимание информации о повторном риске рождения больного ребёнка не оказывало очевидного влияния на готовность воспользоваться ПД.

Родители больных ФКУ достоверно чаще получали информацию о наследственной природе заболевания от генетиков (75% и 51% соответственно, $p < 0,05$). Родители больных МВ достоверно чаще, чем родители детей с ФКУ, указывали, что не поняли информацию о повторном риске (6,4% vs 1,2%, $p < 0,05$), чаще неправильно указывали его значения (32,0% vs 15,0%, $p < 0,05$). В то же время они чаще правильно расценивали риск как высокий, тогда как родители детей с ФКУ чаще его оценивали как средний ($p < 0,05$). Родители больных МВ чаще, чем родители детей с ФКУ указывали, что возможность ПД изменила их репродуктивные планы, что они будут делать ПД, если наступит беременность (64,9% vs 43,3%, $p < 0,05$). Только 1,1% респондентов ответили, что они не будут прерывать беременность плодом с МВ, тогда как 23,5% родителей больных ФКУ выбрали такой ответ ($p < 0,05$).

Работа выполнялась при поддержке РФФИ (проект 13-06-00710) и РГНФ (проект 15-03-00822)

Мультиплексная лигазная проба-зависимая амплификация (MLPA) и поиск точек разрыва методом ПЦР в реальном режиме у пациентов с миодистрофией Дюшенна

Боровикова А.В., Камалиева Б.О., Нагимтаева А.А., Абильдинова Г.Ж.

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

Мышечная дистрофия Дюшенна (МДД, OMIM 310200) — X-сцепленное рецессивное заболевание. При медико-генетическом консультировании основной упор приходится на пренатальную диагностику с целью снижения рождаемости мальчиков с миодистрофией Дюшенна и выявление гетерозиготного носительства мутаций в гене дистрофина у девочек.

Для ДНК диагностики МДД в качестве материалов для исследования были использованы образцы цельной крови 113 пациентов, из них 79 с клиническими проявлениями и 34 предполагаемые женщины — носительницы мутации гена дистрофина, а также 3 плодового материала. Использовали MLPA набор с зондами P034 и P035 MRC Holland, для выявления делеции/дупликации в гене DMD. Для определения делеционных точек разрыва использовали системы детекции — SYBR и Taq Man. Праймеры синтезировали с помощью Sigma Aldrich Ltd.

При проведении метода с использованием MLPA были выявлены делеции гена дистрофина у 41 (37%) и дупликации у 14 (13%). Среди них крупные мутации — делеции множества экзонов были выявлены в семи случаях, в то время как делеций одного экзона обнаружены в трёх случаях. Дупликаций множества экзонов гена дистрофина диагностированы у 4 больных, тогда как дупликации одного экзона у 10 пациентов. Пренатальная диагностика трёх образцов плодового материала показала в первой семье — делеция множества экзонов — с 11 по 57; во второй семье делеция одного экзона — 23; тогда как в третьей семье мутации в гене дистрофина не выявлена, что подтвердила мутацию *de novo* у старшего брата пробанда.

С целью поиска точки разрыва в гене дистрофина для семьи ((пробанд (2009г.р.), сибс (2012г.р.) и мать) с делецией между экзонами 44—51 гена DMD провели дизайн праймеров с использованием браузеров ENSEMBL, UCSC, Primer 3. С использованием ПЦР в реальном режиме был найден участок соединения начала и конца делетированных экзонов между праймерами 44-45_F-gctgtgggtgaaatgcctt и 50-51_R-tgaaggacattgga-gattg.

Митохондриальные нарушения и их коррекция при наследственных нервно-мышечных нарушениях

Бородатая Е.В., Сидорова О.П.

ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского
Elena.Borodataya@gmail.com

Цель — определить нарушение функции митохондрий при наследственных нервно-мышечных заболеваниях и эффективность её коррекции

Обследовано 55 взрослых больных наследственными нервно-мышечными заболеваниями и миастенией. Проводили цитохимический анализ лимфоцитов в периферической крови. Оценивали 4 фермента митохондрий, участвующих в углеводном обмене (лактатдегидрогеназа, ЛДГ), обмене аминокислот (глутаматдегидрогеназа, ГДГ), обмене жирных кислот (α -глицерофосфатдегидрогеназа, α -ГФДГ) и II комплексе дыхательной цепи митохондрий (сукцинатдегидрогеназа, СДГ). Определяли уровень лактата в крови до и после еды (нагрузки углеводами).

Среди 26 больных наследственной моторно-сенсорной невропатией (НМСН) увеличение лактата отмечалось в 76%. Отклонения от нормальных значений цитохимических показателей были выявлены у всех больных. Активность СДГ была изменена в 83% (в 50% компенсаторно повышена и в 33 — снижена). α -ГФДГ была снижена в 67%, ГДГ снижена в 75%, ЛДГ повышена в 45,3%. У трёх больных миотонической дистрофией и 3 больных боковым амиотрофическим склерозом (БАС) также были изменены цитохимические показатели во всех случаях. У 21 из 22 больных прогрессирующей мышечной дистрофией (ПМД) также выявлено изменение цитохимических показателей и повышение уровня лактата в крови. У одной больной глазной формой миопатии таких изменений не зарегистрировано. При миастении выявлено повышение лактата и изменения цитохимических показателей. Для коррекции нарушений в цикле дыхательной цепи митохондрий был назначен ибиденон (синтетический аналог коэнзима Q₁₀) в дозе 90 мг в сутки. В общей группе больных ПМД отмечено увеличение мышечной силы. Статистически достоверно выросла сила дельтовидной мышцы, двуглавой мышцы плеча, подвздошно-поясничной мышцы. Сила остальных мышц увеличилась, но статистически не значимо. При НМСН улучшилась вибрационная чувствительность, увеличилась сила мышц дистальных отделов конечностей. При миастении увеличилась сила на 1 и 2 балла. У всех больных отмечено улучшение когнитивных функций.

Таким образом, при наследственной нервно-мышечной патологии и миастении отмечается нарушение функции митохондрий.

Клинико-молекулярно-генетические характеристики частых аутосомно-рецессивных форм поясно-конечностных прогрессирующих мышечных дистрофий у больных из РФ

Бородулькина Ю.В., Рыжкова О.П., Дадали Е.Л., Руденская Г.Е., Поляков А.В.

ФГБУ «МГНЦ» РАМН, лаборатория ДНК-диагностики;
oxana-ryz@rambler.ru

Поясно-конечностные прогрессирующие мышечные дистрофии (ПКМД) — группа заболеваний, характеризующихся преимущественным поражением мышц тазового и плечевого поясов. Наиболее распространённым вариантом ПКМД является 2А тип (40%), вторым по частоте является тип 21 (9%). Клинические проявления различных форм ПКМД характеризуются значительным сходством. Мы провели анализ 37 качественных клинических признаков и одного количественного в группах больных с ПКМД 2А и 21 типов, а также в группе больных с изолированными ПКМД, без мутаций в генах *CAPN3* и *FKRP*.

В результате исследования не выявлено специфического симптомокомплекса, характерного для каждой из групп. Однако при сравнении групп больных ПКМД 2А типа и больных, у которых мутаций не обнаружено, статистически достоверно получены различия для следующих признаков: «крыловидные лопатки», симптом дряблых предплечий, нарушение ходьбы на пятках, снижение силы в дистальных отделах нижних конечностей; снижение силы в проксимальных отделах нижних конечностей; снижение силы в проксимальных отделах верхних конечностей. Кроме того, в группе больных ПКМД 2А типа обнаружены деформации стоп и кистей, а также сколиоз в грудно-поясничном отделе позвоночника, которые встречались в 12,9%, 3,29% и 25,81% соответственно и не были выявлены у больных с ПКМД неуточнённого типа, что может свидетельствовать о большей тяжести и генерализации процесса. При сравнительном анализе возраста дебюта заболевания показано, что доля пациентов, у которых признаки заболевания отмечаются до 10-летнего возраста, в группе ПКМД 2А достоверно превышает их долю в группе больных, у которых не обнаружено мутаций. Результаты анализа для группы ПКМД 21 не являются статистически значимыми в связи с её малым размером. Проведён анализ частот встречаемости и спектра обнаруженных мутаций генов *CAPN3* и *FKRP*.

В гене *CAPN3* обнаружены 24 различные мутации на хромосоме 61 у 32 больных. Выявлены две частые мутации: с.598_612del и с.550delA. При исследовании всей кодирующей последовательности гена *FKRP*, обнаружено 5 различных мутаций на 12 хромосомах. Выявлена частая мутация с.826C>A. На основании результатов анализа разработан алгоритм диагностики ПКМД.

Учитывая отсутствие значимых клинических признаков, дифференцирующих ПКМД 2А и 21 типа, в основу алгоритма положены частоты встречаемости двух проанализированных генетических вариантов, наличие мажорных мутаций и «горячих» экзонов генов *CAPN3* и *FKRP*.

Ассоциативное исследование подверженности болезни Альцгеймера в русской популяции Сибирского региона

Бочарова А.В.¹, Марусин А.В.¹, Жукова Н.Г.², Алифорова В.М.², Жукова И.А.², Степанов В.А.¹

¹ ФГБНУ «НИИ медицинской генетики», г.Томск, Набережная реки Ушайки, д.10

e-mail: anna.bocharova@medgenetics.ru

² ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г.Томск, Московский тракт, 2

Болезнь Альцгеймера (БА) является прогрессирующим многофакторным нейродегенеративным расстройством, которое ведет к нарушению кратковременной и долговременной памяти из-за гибели нейронов и потери синаптических связей в коре головного мозга. Это заболевание в основном поражает людей пожилого возраста (после 65 лет) и считается основной причиной слабоумия среди них. Всемирная организация здравоохранения оценила, что в настоящее время приблизительно 25 миллионов человек во всем мире страдают этим недугом. Несмотря на более чем 100-летнюю историю изучения БА, патогенетические механизмы её развития остаются недостаточно ясными. В последние годы было проведено несколько крупных полногеномных ассоциативных исследований (GWAS) по поиску маркеров, связанных с нейропсихическими заболеваниями, в которых была выявлена высокодостоверная ассоциация нескольких десятков генетических маркеров с БА. В связи с чем, целью нашей работы было проведение ассоциативного исследования 42 генетических маркеров с подтвержденностью БА в группе больных и здоровых русских. 15 SNP были протипированы с помощью ПЦР в реальном времени, а 27 SNP были проанализированы в составе мультиплекса с помощью высокопроизводительного генотипирования методом MALDI-TOF масс-спектрометрии на платформе «Sequenom MassARRAY Analyzer 4». Нами проведено сравнение частот генотипов и аллелей между группами больных БА ($n = 110$) и контрольной группой ($n = 285$) по 42 SNP. С БА в нашей выборке оказались ассоциированы аллель G rs2616984 гена *CSMD1* ($OR = 1,50$, $p = 0,018$), аллель G rs11064768 гена *CCDC60* ($OR = 2,15$, $p = 0,02$) и аллель G rs12922317 гена *SNX29* ($OR = 1,47$, $p = 0,02$). Роль генов *CSMD1*, *CCDC60* и *SNX29* в патогенезе БА не ясна, но по ранее опубликованным GWAS эти маркеры ассоциированы с когнитивными способностями (rs2616984 гена *CSMD1*) и шизофренией (rs11064768 гена *CCDC60*, rs12922317 гена *SNX29*). Наши результаты демонстрируют возможность существования общей генетической составляющей у болезни Альцгеймера, когнитивных способностей и шизофрении.

Работа была поддержана грантом РФФИ №12-04-00595.

Генетически обусловленные формы тератозооспермии

Брагина Е.Е.^{1,2}, Сорокина Т.М.¹,
Арифюлин Е.А.², Курило Л.Ф.¹

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», 15478, Москва, ул. Москворечье, д. 1

² НИИ физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского МГУ, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40
bragor@mail.ru

Генетические причины (хромосомные аномалии и точковые мутации) присутствуют у 10–15% мужчин с нарушением фертильности. Гомогенные структурно-функциональные дефекты сперматозоидов при тотальной терато- или астенозооспермии — редкие случаи генетически обусловленной мужской infertility, относятся к аутосомно-рецессивным заболеваниям.

В настоящее время описано 5 типов «синдромной» спермопатологии:

1. Первичная цилиарная дискинезия (ПЦД) у мужчин с тотальной астенозооспермией. Поражаются структуры аксономы (микротрубочки, динеиновые ручки, радиальные спицы). Выявлено 29 хромосомных локусов, ответственных за ПЦД;

2. Дисплазия фиброзной оболочки (ДФО) жгутиков сперматозоидов у мужчин с астенозооспермией. В укороченных и утолщенных жгутиках сперматозоидов наблюдается дезорганизация вертикальных колонн и поперечных реберных фибрилл ФО. Кандидатные гены — гены семейства ACAP;

3. Глобулозооспермия у мужчин с тератозооспермией характеризуется наличием сперматозоидов с круглыми головками, первичным отсутствием акросомы и дезорганизацией среднего отдела жгутика. Найдены мутации или делеции генов *SPATA16*, *PICK1* и *DPY19L2*;

4. Синдром ацефалических сперматозоидов у мужчин с тератозооспермией (микроцефалией). Аномалии развития при спермиогенезе соединительного участка и проксимальной (морфологически нормальной) центриолы;

5. Локальное или тотальное отсутствие митохондрий в среднем отделе жгутика у некоторых пациентов астенозооспермией. Кандидатный ген — *Hst* locus t комплекса.

В 2012–2014 гг. нами проведено исследование ультратруктуры 2267 образцов спермы мужчин с нарушением фертильности. Выявлено 5 случаев глобулозооспермии, 3 случая тотального нарушения структуры митохондрий, 12 случаев ДФО (в 4 случаях — в сочетании с ПЦД), 1 случай ацефалических сперматозоидов. Отсутствие динеиновых ручек аксономы (ПЦД) обнаружено у одного пациента, другой вариант ПЦД (отсутствие радиальных спиц аксономы) — у 3 пациентов.

Проблема генетически обусловленных форм патозооспермии должна учитываться при применении ВРТ. Отсутствие полных данных по этиологическим факторам синдромной спермопатологии, немногочисленность случаев успешного применения ВРТ у таких пациентов не позволяет в полной мере оценить степень генетического риска.

Общие генетические факторы развития бронхиальной астмы и туберкулеза

Брагина Е.Ю.¹, Тийс Е.С.², Фрейдин М.Б.¹,
Конева Л.А.¹, Иванисенко В.А.², Пузырев В.П.¹

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской генетики», 634050, г.Томск, Набережная реки Ушайки, д. 10
e-mail: elena.bragina72@gmail.com

² ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, г.Новосибирск, Россия, пр. ак. Лаврентьева, 10

Согласно эпидемиологическим данным, у пациентов с аллергическими заболеваниями, в том числе atopической бронхиальной астмой, снижена вероятность развития некоторых инфекционных болезней, включая туберкулез. Патогенез бронхиальной астмы и туберкулеза значительно различается. Тем не менее, для этих с точки зрения иммунологии полярных заболеваний существуют перекрывающиеся механизмы развития, активация/ингибирование которых может повысить вероятность развития астмы и одновременно снизить риск развития туберкулеза, и наоборот.

В данной работе мы определяем общие гены бронхиальной астмы и туберкулеза, предполагая их влияние на редкое сочетание этих двух заболеваний у одного индивида. С этой целью выполнена реконструкция и анализ генных сетей, включающих молекулярные связи для исследуемых заболеваний. В результате исследования установлено 19 общих генов, ассоциированных с обеими болезнями (*IL2*, *IL8*, *IL10*, *IL12B*, *TNFA*, *IFNG*, *HLA-DQB1*, *HLA-DRB1*, *CCL2*, *IL1B*, *IL4*, *IL6*, *CXCL10*, *SPPI*, *VDR*, *SLC11A1*, *TNFRSF1B*, *CD4*, *CD79A*). Согласно классификации Gene Ontology эти гены вовлечены в 1262 биологических процесса, в том числе иммунный ответ типа Th1 и Th2. Общие молекулы характеризуют различные типы связей, включая положительную и отрицательную регуляцию одного белка другим; отношения между ферментом, субстратом и продуктом; совместную коэкспрессию двух генов и многие другие.

Таким образом, в ходе сетевого анализа выявлены общие гены, которые могут быть вовлечены в сигнальные пути, способные регулироваться во взаимно противоположных направлениях, соответственно, предотвращая одновременное проявление аллергических и инфекционных болезней.

Исследование выполняется при частичной финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №15-04-05852.

Гендерные особенности ассоциаций парных сочетаний полиморфизмов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков с изолированным дефектом межжелудочковой перегородки

Брайко О.П.¹, Лазарев К.Ю.¹, Голубцов В.И.¹, Полоников А.В.², Мороз А.Н.¹

¹ Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, ул. Седина 4
brayko_or@mail.ru

² Курский государственный медицинский университет, Курск, ул. Карла Маркса 3

Важную роль в патогенезе врожденного дефекта межжелудочковой перегородки сердца (ДМЖП) играет система ферментов биотрансформации ксенобиотиков (ФБК), генетические механизмы которой до настоящего времени полностью не определены, а изучен вклад отдельных полиморфизмов генов этой системы [Шабалдин А.В., 2007; Wang C. et al., 2013].

Проведенный нами стратифицированный анализ установил половые различия в ассоциациях парных сочетаний генотипов полиморфных вариантов генов ФБК с риском развития изолированного ДМЖП. Предрасположенность к ДМЖП у мальчиков ассоциировалась с носительством вариантов генотипов *CYP1B1* 432AA, *NAT2* 590GG, *NAT2* 590 GA, *ABCB1* 3435CT, *CYP1B1* 432AA, *CYP2C9* 1075AA, *CYP1B1* 432GG, *CYP3A4* 664TT, *CYP3A4* 664TT, *CYP3A5* 6986AA, тогда как у девочек — *CYP1B1* 432AG, *NAT2* 590AA, *CYP2C9* 1075AC, *CYP3A4* 664TC, *CYP2C9* 1075AC, *CYP3A5* 6986AA.

Для лиц мужского пола определены 5 сочетаний генотипов полиморфных генов системы ФБК как маркерные ДМЖП, из которых 3 прогностически неблагоприятные — *CYP1B1* 432AA x *NAT2* 590GG ($p = 0,03$, OR = 3,29, 95% CI = 1,11–9,74), *CYP1B1* 432GG x *CYP3A4* 664TT ($p = 0,002$, OR = 14,23, 95% CI = 1,72–117,86), *CYP3A4* 664TT x *CYP3A5* 6986AA ($p = 0,04$, OR = 4,75, 95% CI = 0,98–23,10) и 2 устойчивые — *NAT2* 590GA x *ABCB1* 3435CT ($p = 0,04$, OR = 0,37, 95% CI = 0,15–0,94), *CYP1B1* 432AA x *CYP2C9* 1075AA ($p = 0,05$, OR = 0,40, 95% CI = 0,17–1,00). Для лиц женского пола установлены 3 сочетания генотипов, соответственно прогностически неблагоприятные — *CYP1B1* 432AG x *NAT2* 590AA ($p = 0,05$, OR = 2,66, 95% CI = 0,95–7,41), *CYP2C9* 1075AC x *CYP3A4* 664TC ($p = 0,05$, OR = 7,07, 95% CI = 0,77–64,83) и устойчивые — *CYP2C9* 1075AC x *CYP3A5* 6986AA ($p = 0,05$, OR = 0,36, 95% CI = 0,13–1,03) в формировании ДМЖП.

Гендерные особенности ассоциаций парных сочетаний исследованных полиморфизмов необходимо учитывать в качестве прогностических маркеров риска развития ДМЖП при моделировании алгоритма первичной профилактики этого врожденного порока развития.

Редкие заболевания. Московский сегмент Федерального регистра

Брюханова Н.О.^{1,2}, Жилина С.С.^{1,2}, Мещерякова Т.И.¹, Мutowин Г.Р.^{1,2}, Зинченко Р.А.^{1,2,3}, Ковалев Д.В.¹

¹ ФГУЗ «Научно-практический центр медицинской помощи детям ДЗМ», 119620, Москва, ул. Авиаторов, д. 38

E-mail: nataliabruhanova@gmail.com

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

³ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1

Редкие заболевания — заболевания, затрагивающие небольшую часть популяции и имеющие распространённость не более 10 случаев на 100 тыс. населения. Общее количество пациентов с редкими заболеваниями только в странах Евросоюза оценивается более чем в 30 млн чел. Для привлечения к проблеме данных заболеваний, изучения их патогенеза, распространённости, а также создания лекарственных средств требуется поддержка со стороны государства. С 1 января 2012 г. вступил в силу федеральный закон №323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в РФ», который предусматривает лечение людей с редкими заболеваниями. Финансирование медпомощи таким больным возложено на регионы. Всего было сформировано два перечня редких заболеваний. Один — это перечень жизнеугрожающих и хронических прогрессирующих редких (орфанных) заболеваний, приводящих к сокращению продолжительности жизни или к инвалидности, — согласно Постановлению Правительства РФ от 26.04.2012 №403 включает 24 заболевания. Это те заболевания, для которых в настоящее время имеется патогенетическое лечение. Второй список, подготовленный Министерством здравоохранения РФ, включает перечень редких заболеваний из 230 наименований. Для того, чтобы точно определить потребность в лекарственных препаратах, объём финансирования и сделать помощь адресной, Постановлением Правительства РФ от 26.04.2012 №403 был определен Порядок ведения Федерального регистра пациентов с редкими заболеваниями. На основании приказа Департамента здравоохранения №500 от 01.06.2012 года, в составе НПЦ Мед. помощи детям создано структурное подразделение для сбора, регистрации и обобщения сведений о лицах, страдающих редкими заболеваниями.

За прошедший период нашим отделом были получены сведения о пациентах с заболеваниями, подлежащими обязательной регистрации, от государственных бюджетных учреждений города Москвы. На конец четвертого квартала 2014 г. в Московском сегменте федерального регистра состоят 1158 пациентов, из них 676 детей и 482 взрослых. Так как это направление пока только развивается, существует несколько проблем. Это недостаточная информированность врачей об орфанных заболеваниях, трудности диагностики и обеспечения лекарственными препаратами, так как в соответствии с законом №323 пациенты должны получать лечение бесплатно.

Опыт применения технологии высокопроизводительного секвенирования для диагностики наследственных заболеваний сердца в российской выборке

Букаева А.А., Глазова О.В., Заклязьминская Е.В.

ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. Б.В. Петровского»

ДНК-диагностика при врожденных заболеваниях сердца необходима для подтверждения диагноза и медико-генетического консультирования. Экспертный консенсус Европейской ассоциации сердечного ритма по генетическому тестированию для каналопатий и кардиомиопатий рекомендует исследование более 5–10 генов для этих групп заболеваний. Применение классического метода секвенирования ДНК по Сенгеру в данном случае затруднительно ввиду больших временных и финансовых затрат. Перспективной методикой скрининга мутаций у таких пациентов является полупроводниковое секвенирование на платформе Ion Torrent (Life Technologies), позволя-

ющее анализировать большое число генов у нескольких человек одновременно.

Были смоделированы (с помощью онлайн-сервиса Ampli-Seq Designer, Life Technologies) панели олигопраймеров для мультиплексной амплификации кодирующих областей следующих генов: панель «Кардиомиопатии» — гены *MYBPC3*, *TAZ*, *TPM1*, *LDB3*, *MYL2*, *ACTC1*, *MYL3*, *MYH7*, *TNNI3*, *TNNI2*; панель «Каналопатии» — гены *KCNQ1*, *KCNE2*, *KCNE3*, *KCNE1*, *SNTA1*, *SCN3B*, *SCN4B*, *SCN1B*, *SCN1B*, *KCNH2*, *KCNJ2*. В период с октября 2013 г. по декабрь 2014 г. с помощью панели «Кардиомиопатии» было протестировано 80 пациентов, с помощью панели «Каналопатии» — 52 пациента. При анализе результатов учитывали участки с не менее чем 7-кратным покрытием. Фрагменты, не покрытые праймерами AmpliSeq, секвенировались по Сенгеру. Находки, представляющие потенциальную клиническую значимость, также подтверждались контрольным секвенированием по Сенгеру.

Среднее покрытие кодирующей области генов панели «Кардиомиопатии» составило 80%, у одного пациента обнаруживали в среднем 35 генетических вариантов. Гены панели «Каналопатии» покрывались в среднем на 83,7%, у одного больного детектировалось в среднем 18 вариантов в кодирующей и прилегающих интронных областях. В 12 семьях с каналопатиями было найдено 13 мутаций, из них 6 — в гене *SCN5A*, 3 — в гене *KCNQ1*, 3 — в гене *KCNH2*, и одна мутация в гене *SCN3B*. В 6 семьях с кардиомиопатиями найдено 7 мутаций, из них 4 мутации обнаружено в гене *MYH7*, 2 — в гене *MYBPC3*, а также одна мутация в гене *TPM1*. Итоговая стоимость анализа на порядок ниже расчётной стоимости скрининга аналогично набора генов методом Сенгера.

Дифференциальная диагностика сфинголипидозов с нейрональными цероидными липофусцинозами

Букина А.М.¹, Букина Т.М.¹, Цветкова И.В.²

¹ ФГБНУ «МГНЦ», 115478, Москва, ул. Москворечье, д.1
abookina@yandex.ru

² ФГБНУ «НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича», 119121, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8

Нейрональные цероидные липофусцинозы (НЦЛ) — группа наследственных нейродегенеративных заболеваний, характеризующаяся накоплением липофусцин-подобного аутофлуоресцентного материала во многих типах клеток, включая нейроны. НЦЛ широко распространены во всем мире и по данным некоторых публикаций, являются наиболее частой группой наследственных нейродегенеративных заболеваний, манифестирующих в детском возрасте.

В клинической картине большинства НЦЛ ведущими являются эпилептические приступы (миоклонус-эпилепсия) в сочетании с задержкой психомоторного развития и потерей ранее приобретённых навыков. Частыми симптомами являются атаксия, пигментная дегенерация сетчатки, приводящая к слепоте, прогрессирующая атрофия головного мозга. К числу других, менее частых симптомов, относятся умеренная гепатоспленомегалия, дегенерация макулы, что требует проведения дифференциальной диагностики с другими нейродегенеративными заболеваниями из группы сфинголипидозов (Gm1, Gm2-ганглиозидозы, болезнь Ниманна — Пика тип А/В, С, болезнь Гоше тип 2).

В данном исследовании в группе из 784 пациентов с направляющими диагнозом «сфинголипидоз» выявлено 6 пациентов с НЦЛ2, и 3 пациента с НЦЛ1, что указывает на необходимость проведения дифференциальной диагностики с НЦЛ у пациентов, направленных для исключения лизосомных болезней накопления с преимущественным поражением нервной системы.

Результаты молекулярно-генетического исследования ряда лизосомных болезней накопления в выборке российских пациентов

Букина Т.М., Букина А.М., Воскобоева Е.Ю.

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1. tbookina@mail.ru

Для диагностики и изучения молекулярно-генетических особенностей лизосомных болезней накопления в практику лаборатории НБО МГНЦ с 1993 г. внедрены методы ДНК-анализа ряда генов.

В нашей выборке наиболее многочисленной группой лизосомных болезней накопления (ЛБН) являются мукополисахаридозы (МПС) — 43%, болезнь Гоше (БГ) — 25%, нейрональные цероидные липофусцинозы (НЦЛ) — 9%. Количество генотипированных на сегодняшний день пациентов с МПСII составляет 260 чел., с МПСI — 136 чел., с МПСIIA — 69 чел., с МПСVI — 50 чел., с БГ — 327 чел., с НЦЛ2 — 93 чел., с МЛД — 54 чел. Анализ фамилий пациентов позволил разделить выборки на следующие группы по происхождению: славянская, тюркская, северо-кавказская, армянская, германская. За исключением пациентов с МПСII A, в которой все 69 чел. были славянами, при других нозологических формах наблюдалось значительное разнообразие по этническому составу выборки. При сравнении результатов молекулярно-генетической диагностики разных этнических групп были выявлены следующие особенности: у пациентов с МПСII и болезнью Ниманна—Пика типа А/В большая часть мутаций представлена единичными, или редкими аллелями; у пациентов с БГ вне зависимости от этнического происхождения, несколько мутаций являются наиболее частыми, такая же картина наблюдается при НЦЛ2; у пациентов с МПСI, МПС VI, МЛД — выявлены частые мутации, характерные для определённых этнических групп.

Полученные результаты позволяют предположить наличие специфических генетических особенностей для пациентов различных этнических групп и оптимизировать молекулярно-генетическую диагностику.

Аутосомно-рецессивные формы мышечных дистрофий в выборке больных с клиническим диагнозом МДД/МДБ

Булах М.В., Рыжкова О.П., Забненкова В.В., Дадали Е.Л., Руденская Г.Е., Поляков А.В.

ФГБНУ «МГНЦ», Москва; e-mail: oxana-ryz@rambler.ru

Прогрессирующие мышечные дистрофии (ПМД) — гетерогенная группа заболеваний, за возникновение вариантов которой ответственно около 30 генов. Мышечная дистрофия Дюшенна/Беккера является наиболее распространённым и изученным заболеванием этой группы. Однако существует ряд вариантов сходных с ним по клинической картине. Наиболее распространёнными из них являются ПКМД2A и 2I типов, а также СМА 3 типа.

Целью работы был генетический анализ частых форм ПКМД и СМА в выборке больных мальчиков с направляющим диагнозом МДБ/МДД.

Материалом исследования являлись образцы ДНК 1355 пробандов мужского пола с направляющим диагнозом МДБ/МДД. Контрольную выборку составил 791 образец ДНК, полученный от неродственных жителей различных регионов РФ. В результате предварительной работы из 1355 пациентов с МДБ/МДД в более чем половине случаев диагноз молекулярно-генетическими методами не подтвердился. У 34 из 791 исследованного пробанда (без делеций в гене *DMD*) обнаружены мутации в гене *CAPN3*. В 30 случаях мутации в гомо-/компунд-гетерозиготном состоянии, в четырёх случаях вторая мутация не обнаружена. У 11 из 681 исследованного пробанда (без делеций в гене *DMD*) обнаружены мутации в гене *FKRP*. В семи

случаях мутации в гомо-/компаунд-гетерозиготном состоянии, в четырёх случаях вторая мутация не обнаружена. Однако, при исследовании контрольной выборки, носительство частых мутаций в гене *CAPN3* в гетерозиготном состоянии обнаружено у 5 чел., а частых мутаций в гене *FKRP* у 3 чел.

Таким образом, показано, что пациенты с одной обнаруженной мутацией являются популяционными носителями, а не больными. У 16 из 563 исследованных пробандов (без делеций в гене *DMD*) обнаружены мутации в гене *SMNc*. Учитывая долю частых мутаций среди всех мутаций генов, а также аппроксимируя данные, полученные из исследования, на общее число больных без мутаций, было показано, что в выборке больных с направляющим диагнозом МДБ/МДД в 5,6% случаев обнаруживаются мутации в генах AP форм ПКМД (*CAPN3* — 3,1%, *FKRP* — 0,7%, *SMNc* — 1,8%). Среди пациентов без мутаций в гене *DMD*, данная доля оставляет 9,5%, соответственно *CAPN3* (5,3%), *FKRP* (1,2%), *SMNc* (3,0%). Таким образом, показана необходимость использования клинико-молекулярно-генетических алгоритмов исследования прогрессирующих мышечных дистрофий, основанных не только на клинических данных, но и на частотах встречаемости различных вариантов миодистрофий со схожими клиническими проявлениями.

Изучение некодирующих участков генома вокруг генов супрессоров опухолей

Бутенко Е.В.¹, Романов Д.Е.¹,
Пшеничный Е.А.¹, Машкина Е.В.²

¹ Южный федеральный университет,
ул. Б. Садовая 105/42, г. Ростов-на-Дону

² КДЛ «Наука», ул. Загорская 23, г. Ростов-на-Дону

Каждый тип опухолей человека обладает уникальным набором экспрессируемых микроРНК. Гены микроРНК могут быть локализованы в интронах и экзонах генов, как на смысловой, так и на антисмысловой цепи, а также в геномном окружении. Такая организация генома обеспечивает структурно-функциональную взаимосвязь белок-кодирующих генов с микро-РНК регуляторами, и является отражением эволюционных процессов. Понимая, что работа генома тесно связана с его организацией, мы провели биоинформационный анализ локализации микроРНК вокруг некоторых генов супрессоров опухолей, с целью выявления общих и специфических закономерностей локализации микроРНК.

Объектом исследования служили нуклеотидные последовательности межгенных участков генома человека, расположенные вокруг генов-супрессоров опухолей — *APC*; *BRCA1*; *BRCA2*; *CDKN2A*; *DCC*; *MEN1*; *NF1*; *NF2*; *PTEN*; *RBI*; *TP53*; *VHL*; *WT1*. Нуклеотидные последовательности были получены из баз данных NCBI и miRBase посредством E-utilities API. Поиск мотивов осуществлялся с помощью биоинформационного пакета MEME Suite. Учитывались мотивы со степенью гомологии 85% и выше.

Показано, что исследуемый участок генома содержит 755 последовательностей длиной 19—23 нуклеотида, гомологичных 261 последовательностям зрелых ми-РНК по данным miRBase 21. Около 60% всех обнаруженных мотивов были гомологичны микроРНК miR-5585, miR-1273, miR-619, miR-5196, miR-5095, miR-709 и miR-1285. Эти мотивы могут рассматриваться как неспецифические, и широко распространены по всему геному человека. Кроме этого, показано, что количество мотивов, плотность их распределения в околочастотных участках генома и тип последовательности варьировал от гена к гену. Результаты будут использованы при разработке новых мишеней для диагностики и терапии опухолей.

Исследование выполнено стратегическим партнером НАО «Наука» (Ростов-на-Дону) для проекта Министерства образования и науки Российской Федерации «Разработка полногеномных молекулярных карт для выявления новых терапевтических мишеней» номер RFMEFI57814X0003.

Трисомия 16 при развивающейся беременности

Бушуева О.А., Чернова А.В.

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Свердловской области «Клинико-диагностический центр «Охрана здоровья матери и ребёнка»,
620027, г. Екатеринбург, ул. Флотская, 52, тел. (343)360-15-25;
busholga58@gmail.com, anna.v.chernova@gmail.com

В рамках национального проекта «Здоровье» за 2012—2014 гг. проведено 2208 инвазивных процедур в группе беременных высокого риска. Выявлено 496 случаев различных хромосомных aberrаций (ХА), в том числе с трисомией 21 — 254 случая, с трисомией 18 — 86, трисомией 13 — 34, других хромосомных aberrаций — 125. Среди других ХА, выявляемых в 1 триместре, трисомия хромосомы 16 в кариотипе ворсинчатого хориона, требует особого подхода при медико-генетическом консультировании семьи.

За 3 года выявлено 9 случаев трисомии 16 в кариотипе ворсинчатого хориона при развивающейся беременности. Возраст женщин — старше 30 лет. У 8 из них — отягощённый акушерский анамнез (замершая беременность, медицинский аборт, рубец на матке).

Двум женщинам из девяти рекомендовано прерывание беременности в связи с множественными врождёнными пороками развития плода, несовместимыми с жизнью. В одном случае произошла антенатальная гибель плода в 36 нед. беременности. У трёх женщин беременность закончилась преждевременными родами. Кариотип лимфоцитов периферической крови родившихся детей — 46,XY. Со стороны внутренних органов — пороки сердца и мочевыводящей системы. Три женщины вынашивают беременность, причём у плода одной из женщин пороки опорно-двигательной системы (косопласть), у другой — плацентомегалия, гипоспадия у плода, у третьей — без пороков.

Исследование клеток плода не проводилось, так как предполагается, что трисомия хромосомы 16 — явление ограниченного плацентарного мозаицизма (ОПМ), и цитогенетический анализ тканей эмбрионального происхождения нецелесообразен.

Известно, что тяжесть эффектов ОПМ может зависеть от распространения ХА в различных экстраэмбриональных тканях, от количественного соотношения нормальных и аномальных клеточных клонов (в случае мозаичной плаценты), наличия или отсутствия однородительской дисомии (ОРД) в эмбриональных клетках и соответственно эффектов геномного импринтинга.

Трисомия может быть ограничена только цитотрофобластом (выявляется «прямым методом»), или экстраэмбриональной мезодермой (выявляется при культивировании ворсин хориона) или в обеих тканях. Может быть полной или мозаичной. Не исключено формирование истинного плацентарного мозаицизма.

Решение данной проблемы может быть получено с использованием методов молекулярно-цитогенетического анализа (FISH) некультивированных клеток эмбрионов и плодов, а также микроциповых технологий (для выявления ОРД).

Исследование связи полиморфизма 640A>G гена *CYBA* с развитием артериальной гипертензии

Бушуева О.Ю., Булгакова И.В., Барт Ю.И.,
Стецкая Т.А., Вялых Е.К., Рыжаева В.Н.,
Солодилова М.А., Полоников А.В., Иванов В.П.

Курский государственный медицинский университет, 305041,
г. Курск, ул. К. Маркса, д.3., кафедра биологии, медицинской генетики и экологии

E-mail: olga.bushueva@inbox.ru

Известно, что избыточная продукция активных форм кислорода (АФК) способствует развитию дисфункции эндотелия и существенно влияет на риск развития артериальной гипертензии.

зии (АГ). Основным источником АФК является NAD(P)H оксидаза. Субъединица p22^{phox}, кодируемая геном *CYBA*, играет ключевую роль в поддержании активности NAD(P)H оксидазы. Целью настоящего исследования было изучение ассоциации функционально значимого полиморфизма 640A>G (rs1049255) гена *CYBA* с развитием АГ. Материалом для исследования послужила ДНК 1311 больных АГ (704 мужчины, 607 женщин, средний возраст $56,14 \pm 10,50$ лет) и 825 относительно здоровых индивидов с нормальным уровнем артериального давления (408 мужчин, 416 женщин, средний возраст $55,84 \pm 8,87$ года). Генотипирование проводили с помощью TaqMan-зондов. Распределение частот аллелей и генотипов в обеих группах соответствовало равновесию Харди—Вайнберга. Значимых различий в частотах аллелей и генотипов обнаружено не было, однако, у больных наблюдалось относительное преобладание гомозигот 640AA (28,1%) по сравнению с контролем (24,5%): OR = 1,02, 95%CI = 0,83—1,25, $p = 0,07$. Стратифицированный по полу анализ различий в частотах аллелей и генотипов у женщин не выявил, однако у больных АГ мужчин частота гомозигот 640AA была выше (27,7%), чем в контроле (22,3%): OR = 1,33, 95%CI = 1,00—1,78, $p = 0,047$. В то же время частота гетерозигот 640AG у больных АГ мужчин была относительно ниже (48,7%) по сравнению с контролем (54,4%): OR = 0,80, 95%CI = 0,62—1,02, $p = 0,07$.

Исследование ассоциации полиморфизмов -129C>T гена *GCLC* и -588C>T гена *GCLM* с риском развития атопического дерматита у детей Курской области

Быканова М.А., Солодилова М.А., Богомазов А.Д., Полоников А.В.

Курский государственный медицинский университет, г. Курск, ул. Карла Маркса, д.3, marina.bickanova@yandex.ru

Атопический дерматит (АД) является хроническим рецидивирующим аллергическим заболеванием с экзематозным поражением кожи, возникновение которого обусловлено как факторами внешней среды, так и генетической предрасположенностью. Современные исследования указывают на полигенную природу заболевания. В патогенезе АД ведущую роль играют иммунологические нарушения. К медиаторам ранней фазы аллергической реакции немедленного типа относятся гистамин и лейкотриены. Образование лейкотриенов происходит при участии глутатиона, который является одним из важнейших факторов антиоксидантной системы человека. Синтез глутатиона происходит под контролем фермента глутаматцистеинлигазы, состоящей из двух субъединиц: регуляторной (*GCLM*) и каталитической (*GCLC*).

Целью настоящего исследования было изучение связи полиморфных вариантов генов *GCLC* и *GCLM* с риском развития АД у детей. Было обследовано 74 ребёнка с АД и 84 здоровых ребёнка русской национальности, проживающих на территории Курской области. Генотипирование образцов ДНК детей по полиморфизмам -588C>T (rs41303970) гена *GCLM* -129C>T (rs17883901) гена *GCLC* проводилось методом ПЦР в режиме реального времени путём дискриминации аллелей с помощью TaqMan-зондов.

Распределение частот генотипов изучаемых полиморфизмов соответствовало равновесию Харди—Вайнберга для 2 исследованных полиморфизмов. Частоты генотипов CC, CT и TT полиморфизма -588C>T гена *GCLM* у больных АД были следующими: 64,9%, 28,4% и 6,8%, 65,5%, 23,8% и 10,7% у здоровых детей. Частоты генотипов CC, CT и TT полиморфизма -129C>T гена *GCLC* составляли 78,1%, 21,9% и 0% у больных АД и 84,6%, 12,3%, 3,1% у здоровых детей, соответственно. Статистически значимых различий в частотах генотипов между группами здоровых и больных не установлено ($p > 0,05$). Однако

в группе больных количество гетерозиготных генотипов -129CT гена *GCLC* было в выше, чем в контрольной группе (OR = 1,94; 79%CI 0,79—5,04; $p = 0,21$).

Вследствие малочисленности выборок нельзя сделать окончательного вывода о связи полиморфных вариантов генов *GCLC* и *GCLM* с развитием атопического дерматита.

Использование молекулярно-генетических нарушений в опухолевой ДНК для диагностики рака желудка

Быков И.И.¹, Хоробрых Т.В.¹, Залетаев Д.В.¹, Немцова М.В.^{1,2}

¹ ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

nemtsova_m_v@mail.ru

² ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздрава России

В последнее время большое значение приобретает исследование опухолевых маркёров нового типа, к которым можно отнести структурные и функциональные повреждения, выявляемые в геноме опухолевой клетки. Эти повреждения генов влияют на метастатический и инвазивный потенциал, активируют факторы неоплазии, изменяют экспрессию различных белков в клетках опухолей, таким образом, определяют клиническое течение опухолевого процесса.

Цель работы — предложить систему молекулярных маркёров для рака желудка, которые можно использовать для прогнозирования клинического течения опухолевого процесса у пациентов в качестве дополнения к морфологическому анализу опухоли. Определить связь исследуемых молекулярных повреждений в опухолевом материале с клиническими показателями и морфологическими характеристиками опухоли у больных раком желудка.

Исследован операционный материал рака желудка и пограничной, не опухолевой ткани, от 160 пациентов Методом анализа аллельного дисбаланса (АД) микросателлитной нестабильности (МН) и аномального метилирования ряда генов.

Выявлено, что АД по 16p22 ($p = 0,041$) и двум и более локусам в одном образце ($p = 0,0057$) чаще наблюдается в высоко или умеренно дифференцированных опухолях. Аномальное метилирование генов *RUNX*, *N33* и *CDH1* достоверно связано с генерализацией опухолевого процесса и метастазированием в печень ($p < 0,05$), что является маркёром негативного прогноза для рака желудка. Показано, что АД локусов 17p13.3 ($p = 0,038$) и 16p22 ($p = 0,023$), АД по двум и более локусам у одного пациента ($p = 0,0176$) и МН ($p = 0,047$) достоверно чаще определяется в опухолях интестинального типа по сравнению с диффузным типом, а метилирование гена *CDH1* в достоверно выше ($p < 0,05$) — в опухолях диффузного типа, что подтверждает различия молекулярного патогенеза этих типов опухолей желудка.

Результаты неонатального скрининга на наследственные болезни обмена в Архангельской области

Быкова А.В., Пятлина Т.В.

ГБУЗ АО Архангельская областная детская клиническая больница им. П.Г. Выжлецова

Медико-генетическая консультация, г. Архангельск, пр. Обводный канал, д.7, anvita10@rambler.ru

В Архангельской области массовое обследование новорождённых на фенилкетонурию (ФКУ) начато с 1991 г., с 1994 г. проводится скрининг на врождённый гипотиреоз (ВГ). С 2006 г. в рамках национального проекта «Здоровье» новорождённые обследуются на 5 наследственных заболеваний: фе-

нилкетонурию, врождённый гипотиреоз, муковисцидоз (МВ), галактоземию (ГАЛ), врождённую гиперплазию коры надпочечников (АГС). Исследования проводятся на анализаторе «Дельфия». С 2006 года перебоев с реактивами не было, исследования проводятся без перерывов.

Уровень охвата скринингом новорождённых Архангельской области составляет 99%.

Результаты скрининга новорождённых в Архангельской области

Скринируемое заболевание	Обследовано новорождённых	Выявлено больных	Частота заболевания в Архангельской области
Фенилкетонурия	228 849	31	1:7380
Врождённый гипотиреоз	135 205	45	1:3000
Муковисцидоз	135 205	9	1:15000
Адреногенитальный синдром	135 205	10	1:13520
Галактоземия	135 205	4	1:33800

Персонализированная антитромботическая терапия: баланс генетического анализа и функционального ответа

Вавилова Т.В.

ГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр» МЗ РФ

Антиромботическая терапия, включающая лечение в остром периоде, первичную и вторичную профилактику тромбозов различной локализации (артериальных, венозных, внутрисердечных, микроциркуляторных) в полной мере может быть отнесена к нарождающейся области медицины — персонализированной или персонализированной. Оснований для такого включения несколько.

В-первых, у каждого пациента складывается уникальный комплекс причин и факторов риска тромбообразования, значительная часть которых имеет наследственный характер. В анализе причин первого эпизода среди генетических факторов необходимо рассматривать основные тромбофилические мутации и их функциональные последствия — дефицит естественных антикоагулянтов, Лейденская мутация гена фактора V и мутация гена протромбина G20210A. Полиморфизмы генов, ассоциирующиеся с теми или иными тромботическими событиями, не могут быть с достаточными основаниями отнесены к наследственной тромбофилии и рассматриваются как гены предрасположенности. При накоплении нескольких носительств патологических аллелей в рамках генетического консультирования можно говорить о вкладе наследственных механизмов, но не называть такое состояние наследственной тромбофилией. Достаточной доказательной базы для этого нет.

Во-вторых, необходимо учитывать, в какой зоне сосудистого русла развился тромбоз. В зависимости от этого ведущим препаратами будут антиагреганты или антикоагулянты.

В-третьих, многие препараты проходят путь метаболизации печеночными цитохромами (во время превращения в активный метаболит или на пути элиминации), что определяет индивидуальную чувствительность к препарату.

В-четвертых, не только ферментативные участники биохимических превращений, но и сами белки-мишени имеют генетический код, уникальный для каждого человека с вытекающими последствиями чувствительности их к антиромботическим средствам.

Совокупность указанных факторов, а также приверженность больного лечению, определяет функциональный ответ системы гемостаза на антиромботическую терапию и последующие клинические исходы. В момент первичного контакта с больным, выбора терапии в остром периоде и долгосрочной

программы профилактики тромбозов эти моменты должны быть учтены, в необходимых случаях выполнен генетический анализ. Выбор генетических позиций для исследования должен определяться степенью доказанности их значимости в формировании тромбозов и индивидуальном ответе на лекарства, а результаты исследования, ввиду распространенности тромбозов, должны быть понятны любому лечащему врачу. Для распространения знаний нужно использовать все возможности додипломного и последипломного образования, а также возможности создаваемых антикоагулянтных кабинетов для мониторинга больных с высоким риском (фибрилляция предсердий) или реализованными тромбозами.

Влияние фонового уровня фокусов γ H2AX в клетках человека на спонтанный и радиационно-индуцированный уровень цитогенетических нарушений

**Васильев С.А.^{1,2}, Беленко А.А.²,
Мельников А.А.³, Лебедев И.Н.^{1,2}**

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томск, Россия

E-mail: stanislav.vasilyev@medgenetics.ru

² Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

³ Томский научно-исследовательский институт онкологии, Томск, Россия

Фоновый уровень повреждений ДНК и радиочувствительность клеток человека характеризуются значительной межиндивидуальной вариабельностью. Двунитевые разрывы ДНК, маркируемые фокусами фосфорилированного гистона H2AX (γ H2AX), в клетках после воздействия мутагенов традиционно рассматриваются в качестве премутационных повреждений, которые в отсутствие репарации могут приводить к формированию хромосомных aberrаций. Однако в клетках присутствуют и спонтанные фокусы γ H2AX, природа которых не столь ясна. Целью настоящей работы был анализ влияния фонового уровня фокусов γ H2AX в клетках человека на спонтанный и радиационно-индуцированный уровень цитогенетических нарушений. В экстраэмбриональных фибробластах 18 эмбрионов человека и лимфоцитах 54 здоровых индивидов и 11 больных солидными опухолями в ходе лучевой терапии не было обнаружено ожидаемой прямой зависимости спонтанной частоты центромеро-негативных микроядер, содержащих ацентрические фрагменты хромосом, от фонового уровня фокусов γ H2AX. Это указывает на то, что не все фоновые фокусы γ H2AX, в отличие от радиационно-индуцированных, соответствуют двунитевым разрывам ДНК. Более того, в лимфоцитах здоровых индивидов после облучения *in vitro* в дозе 2 Гр была обнаружена обратная корреляция между фоновым уровнем фокусов γ H2AX и частотой радиационно-индуцированных центромеро-негативных микроядер ($R = -0,37$, $p = 0,025$). Проверка в условиях *in vivo* на лимфоцитах 11 онкологических больных в ходе лучевой терапии показала, что фоновый уровень фокусов γ H2AX до начала терапии обратно коррелировал с частотой aberrаций хромосомного типа (большой частью ацентрических фрагментов) после окончания терапии ($R = -0,73$, $p = 0,024$), отражая индивидуальную радиочувствительность индивида. Таким образом, хотя фоновый уровень фокусов γ H2AX не отражает реального количества хромосомных нарушений в клетках, он является маркером индивидуальных особенностей репарации двунитевых разрывов ДНК в клетках человека.

Работа выполнялась при поддержке гранта Президента №МК-14.122.13.6806 и гранта РФФИ №14-04-31867.

Ассоциация аллельных вариантов генов рецепторов TNF с уровнем экспрессии их мембраносвязанных и растворимых рецепторов

Васильев Ф.Ф.¹, Силков А.Н.², Сенников С.В.²

¹ ФГАОУ ВПО «СВФУ им. М.К. Аммосова», 677000, г. Якутск, ул. Белинского, 58
vasilyevmd@gmail.com

² ФГБНУ «НИИФКИ», 630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14

В настоящее время неизвестно, как экспрессия мембраносвязанных и растворимых рецепторов TNF меняется в зависимости от генетического полиморфизма этих генов, и таким образом, изучение функциональности полиморфизмов генов данных рецепторов приобретает особую актуальность.

Цель — изучить ассоциацию аллельных вариантов генов рецепторов TNF с уровнем экспрессии их мембраносвязанных и растворимых форм рецепторов, а также с риском развития рассеянного склероза.

Объекты исследования — МНК и геномная ДНК лейкоцитов периферической крови условно здоровых индивидов ($n = 150$) и больных рассеянным склерозом ($n = 63$). МНК были выделены стандартным методом на градиенте плотности фикола-урографина. Определение уровня экспрессии мембраносвязанных рецепторов TNF на субпопуляциях МНК проводилось методом проточной цитофлуориметрии. Определение сывороточного уровня sTNFR проводилось методом ИФА. Геномную ДНК выделяли из МНК методом фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование полиморфных вариантов промоторных участков генов *TNFRSF1A* (rs4149570, rs4149569), *TNFRSF1B* (rs652625, rs590368) проводили методом ПЦР-ПДРФ.

Установлено, что гомозиготные носители аллеля T в rs4149570 промотора гена *TNFRSF1A* характеризуются пониженным сывороточным уровнем sTNFR1 в сравнении с гомозиготными носителями аллеля G. Индивиды, гомозиготные по аллелю C в позиции rs590368 промотора гена *TNFRSF1B*, имели наименьшее процентное содержание CD14⁺ клеток, экспрессирующих TNFR2. При сравнительном анализе частот генотипов исследуемых полиморфных вариантов не обнаружено статистически значимых различий между контрольной группой и группой больных рассеянным склерозом.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта «Научно-образовательный фонд поддержки молодых учёных Республики Саха (Якутия)» 2014-01-0011.

Популяционно-генетическое изучение татар Республики Татарстан

Васильева Т.А.¹, Тимковская Е.Е.¹, Петрова Н.В.¹, Зинченко Р.А.^{1,2}, Гинтер Е.К.^{1,3}

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1,
e-mail: vasilyeva_debria@mail.ru

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

³ ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» МЗРФ, 125993, Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1

Исследование является частью генетико-эпидемиологического изучения коренного населения Республики Татарстан (РТ). Проведено изучение генетической структуры популяции татар РТ, охватившее три этногеографические группы татар: казанские татары, татары-мишари и тептяри (670 здоровых индивидов из шести районов), по 10 полиморфным ДНК-локусам ядерного генома: *CCR5Δ32*, *ID/ACE*, *D7S23(KM19)*, *STR/THO1*, *STR/FABP2*, *STR/IVS6aGATT(CFTR)*, *VNTR/PAH*, *VNTR/DAT1*,

VNTR/NOS3, *VNTR/APOB*. Показатели средней гетерозиготности указывают на дефицит гетерозигот как для каждого из районов (кроме Буинского), так и в целом в татарской популяции. Наибольший уровень популяционного разнообразия для татар по диаллельной системе установлен по локусу *ID/ACE*, $H_{obs} = 0,4407$, для мультиаллельной системы — по локусу *STR/THO1*, $H_{obs} = 0,7937$. Анализ показателей средней гетерозиготности позволяет предположить, что уровень внутривнутрипопуляционного разнообразия в этнографической группе татар-мишарей ($H_{obs} = 0,4755$) несколько выше, чем у казанских татар ($H_{obs} = 0,4583$) и татар-тептярей ($H_{obs} = 0,4500$). Значения средней межпопуляционной изменчивости по десяти изученным ДНК-локусам ядерного генома для изученных субэтнических групп татар ниже, чем для популяции в целом ($F_{ST} = 0,0077$): для казанских татар ($F_{ST} = 0,0032$), татар-мишарей ($F_{ST} = 0,0038$), татар-тептярей ($F_{ST} = 0,0016$). Большая часть генетической подразделённости татарской популяции обусловлена дифференциацией между этногеографическими группами татар: максимальная степень различий между генофондами этнографических групп выявлена для мишарей и казанских татар ($F_{ST} = 0,0075$); а также для мишарей и тептярей ($F_{ST} = 0,0073$). Меньшая степень различий генофонда по исследованным локусам ядерного генома отмечена для групп казанских татар и тептярей ($F_{ST} = 0,0048$). Как следует из результатов кластерного анализа, на более раннем уровне в единый кластер объединяются татары, относящиеся к двум субэтническим группам: казанские татары и тептяри. Районы, заселённые мишарями, только на последнем уровне присоединяются к остальным территориям. Сходная картина была получена и при оценке генетического сходства с использованием фамилий в качестве квазигенетического маркера, и при оценке генетических расстояний по частотам менделирующих болезней. Анализ генетической структуры популяции демонстрирует сходство поведения условно-нейтральных генетических систем (ДНК-маркеры ядерного генома и квазигенетические маркеры — фамилии) и генов АД и АР наследственных болезней.

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

Новорождённые с триплоидией: варианты фенотипа

Василькова И.В., Прозорова М.В., Прокофьева А.Д., Садик Н.А.

СПГКУЗ «Диагностический центр (медико-генетический)», Санкт-Петербург, Тобольская, 5
petergen@yandex.ru

Триплоидия (Т) у живорождённых встречается крайне редко, являясь в большинстве случаев причиной остановки развития плода. В связи с этим представленные здесь два случая Т у живорождённых детей разного пола интересны для анализа фенотипических проявлений этой аномалии. У матери пробанда А 1-я и 2-я беременности замерли на ранних сроках (картирование не проводилось); 3-я беременность протекала с угрозой прерывания и задержкой развития плода, закончилась рождением пробанда на сроке 30 нед. на фоне маловодия. При рождении масса тела — 620 г, длина тела — 25 см, окружность головы — 17 см. Клинически: гипоплазия нижней челюсти; преаурикулярный отросток справа; стопы: рудиментарные пятые пальцы, умеренное увеличение вторых пальцев; наружные гениталии по женскому типу. При эхографическом исследовании внутренних органов врождённых пороков развития не выявлено. Кариотип: 69,XXX. Пробанд Б родился от 1-й беременности, протекавшей на фоне гестоза с 21-й недели, лёгкой анемии, многоводия, ультразвуковых маркеров: гипоплазии носовых костей, микрогlossии, аномалий развития пальцев стоп. Срок гестации при рождении 26—27 нед., масса тела — 700 г, длина тела — 27 см, окружность головы — 23 см. Клини-

чески: умеренно выраженный экзофтальм; низкое расположение ушных раковин; конусовидная форма пальцев кистей; стопы: нарушение пальцевой дуги; макродактилия второго пальца и выраженный сандалевидный промежуток справа; наружные гениталии представлены образованиями, напоминающими большие половые губы, между ними — мягкотканное образование диаметром около 5 мм; половая щель не прослеживается. При эхографическом исследовании обнаружено персистирование эмбриональных структур сердца; в полости малого таза: образование размерами 8 x 4 мм без четкой дифференцировки. Кариотип: 69,XXY. У пробанда А имелась значительно более выраженная задержка внутриутробного развития (ЗВУР), чем у пробанда Б, несмотря на больший срок гестации у первого. Пробанды различаются спектром отмеченных микроаномалий, среди которых наше внимание особенно привлекли макродактилия/увеличение в размерах вторых пальцев стоп. Макродактилия как изолированный порок встречается редко и в сочетании с ЗВУР и микроаномалиями и/или нарушением дифференцировки пола может оказаться ценным фенотипическим признаком Т.

Неонатальные особенности фенотипа при синдроме концевой делеции длинного плеча хромосомы 18

Василькова Н.Ю., Гилярова М.В., Лукьянова Т.В., Сосницкая С.В.

ГБУЗ Новосибирской области «Центр планирования семьи и репродукции»

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

В медико-генетической консультации г.Новосибирска наблюдаются дети с синдромом частичной моносомии по длинному плечу хромосомы 18, обусловленной концевой делецией.

Кариотипы детей: 46,XX,del(18)(q22),46,XV,del(18)(q21). Кариологические анализы родителей — без особенностей. Родители молодые, возраст родителей на момент рождения детей от 23 до 27 лет. Наследственную отягощенность, профессиональные вредности родители отрицали.

Хромосомная патология у детей диагностирована в периоде новорожденности, показанием для кариологического анализа являлось сочетание специфического фенотипа, врожденного порока развития, низких массо-ростовых показателей.

У всех детей ранний неонатальный период был отягощен, состояние при рождении расценено как тяжелое, обусловленное неврологической симптоматикой, синдромом дезадаптации сердечно-сосудистой системы, дыхательной недостаточностью, морфофункциональной незрелостью, гипербилирубинемией, симптомами интоксикации на фоне неонатальной пневмонии. У одного ребенка задержка внутриутробного развития II степени.

Отмечались общие фенотипические проявления: микроцефалия, гипоплазия средней части лица, уплощение спинки носа, глубоко посаженные глаза, короткие глазные щели, «рот карпа», конусовидные пальцы, проксимальное расположение I пальца кистей, клинодактилия V пальца, ладонная борозда, аномальное расположение пальцев стоп. Неврологический статус характеризовался синдромом угнетения, снижением спонтанной двигательной активности, моторными нарушениями, синдромом мышечной гипотонии, ослаблением физиологических рефлексов. Дети различались по наличию врожденных пороков развития: несращение мягкого, твердого неба и врожденный порок сердца. У одного ребенка отрицательный результат аудиологического скрининга.

При динамическом наблюдении в медико-генетической консультации у всех детей отмечались задержка темпов речево-

го развития, задержка моторного развития, низкие показатели физического развития, малая прибавка массы; у одного ребенка выявлена кондуктивная тугоухость.

Эпидемиология врожденных аномалий развития у новорожденных детей в сельских районах Белгородской области

Верзилина И.Н., Тверская А.В.

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

Цель работы — изучить эпидемиологию врожденных пороков развития (ВПР) у новорожденных в 21 районе Белгородской области.

Частота ВПР среди новорожденных детей Белгородской области за период с 2003 по 2008 г. составила $15,06 \pm 0,49\%$. В структуре ВПР наибольший удельный вес имеют пороки сердечно-сосудистой системы (34,44%), костно-мышечной системы (16,15%), аномалии половых органов (12,23%) и множественные врожденные пороки развития (МВПР) (11,80%). Наименьший удельный вес отмечен для пороков дыхательной системы (0,51%) и аномалий последа (0,21%). Наименьшая частота ВПР зарегистрирована в 2006 г. — 11,89%, наибольшая (19,48‰) — в 2008 г. Тенденция к увеличению распространенности установлена по семи из одиннадцати (63,64%) изученных ВПР: ВПР сердечно-сосудистой системы, лица и шеи, мочевой, дыхательной системы, пороки ЦНС и органов чувств, МВПР, другие пороки.

Кластерный анализ территориального варьирования структуры ВПР среди новорожденных в 21 районе области выявил две группы кластеров. В первый кластер вошли шесть районов области (28,6% от числа всех анализируемых районов): Старооскольский (частота ВПР 21,62 на 1000 новорожденных), Борисовский (19,56‰), Прохоровский (17,99‰), Красненский (17,24‰), Ивнянский (17,19‰), Белгородский (16,75‰); среднее значение — 18,34‰. Второй кластер сформирован пятнадцатью районами области (71,40% от числа всех анализируемых районов): Чернянский (7,07‰), Ровеньской (4,06‰), Вейделевский (5,72‰), Краснояружский (10,21‰), Новооскольский (10,10‰), Корочанский (11,45‰), Ракитянский (13,29‰), Волоконовский (12,67‰), Красногвардейский (13,24‰), Грайворонский (11,66‰), Губкинский (11,19‰), Валуйский (9,54‰), Шебекинский (17,17‰), Яковлевский (11,55‰), Алексеевский (14,43‰); среднее значение — 10,89‰. Различия распространенности ВПР среди новорожденных между двумя группами районов статистически достоверны ($p < 0,001$).

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РГНФ №14-16-31011 «Эколого-гигиеническая оценка репродуктивного здоровья женского населения Белгородской области».

Трудности в диагностике хронического миелолейкоза

Виноградова О.Ю.¹, Туркина А.Г.², Куликов С.М.², Челышева Е.Ю.², Тищенко И.А.², Галайко М.А.², Лазарева О.В.², Сендерова О.М.³, Пепеляева В.М.⁴, Мересий С.В.⁵, Лучинин А.С.⁶, Овсепян В.А.⁶, Милютин Г.И.⁷, Гаврилова Л.В.⁸, Авдеева Л.Б.⁹

¹ ФГБУ ФНКЦ ДГОИ им. Д.Рогачева, РНИМУ им. Пирогова
ФГБУ ГНЦ МЗ РФ, Москва

² ФНКЦ ГНЦ МЗ РФ

³ ОКБ, г.Иркутск

⁴ ГБУЗ ОКБ г. Пермь

⁵ ГБУЗ Пермского края, Клиническая медико-санитарная часть №1

⁶ ФГБУН Кировский НИИ гематологии и переливания крови

⁷ ГБУЗ ОКБ, г.Брянск

⁸ ФГБУ МЗ РФ РКБ 4, г.Саранск

⁹ ГУЗ «Краевая клиническая больница», г.Чита

В настоящее время диагностика хронического миелолейкоза (ХМЛ) основывается на молекулярно-генетических маркерах — выявлении Ph-хромосомы и гена *BCR-ABL*. Данные исследования проводятся при наличии клинической картины, соответствующей хроническому миелолейкозу, и, в ряде случаев, диагноз ХМЛ не подтверждают.

В период с ноября 2009 г. по декабрь 2012 г. исследовался процент случаев ошибочной диагностики ХМЛ, основанной только на клинико-гематологической картине, а также причины ошибочного предположения о наличии ХМЛ. Работа проводилась в шести субъектах России — Республика Мордовия, Забайкальский край, Кировская, Пермская, Брянская, Иркутская области. Оценивались 199 больных с подозрением на ХМЛ, основанным на клинико-гематологических параметрах. Окончательный диагноз ХМЛ подтверждался при выявлении Ph-хромосомы/гена *BCR-ABL*.

Из 199 больных с подозрением на ХМЛ молекулярно-генетические маркеры этого заболевания были выявлены у 103 больных (86%). Остальные 14% случаев ($n = 32$) оказались Ph/*BCR-ABL* — негативными. Среди этих случаев у 27 пациентов диагностированы Ph-негативные хронические миелопролиферативные заболевания, у одного — хронический мегаэритроцитарный лейкоз, у одного — рак яичников, у 2 — острый лейкоз, в одном случае — воспалительный процесс. В гемограмме в обеих группах был лейкоцитоз: у больных с ХМЛ $Me 105 (10-666) \times 10^9/л$, в группе больных без ХМЛ — $Me 25 (5-121) \times 10^9/л$. При этом у больных с ХМЛ выраженный лейкоцитоз (более $50 \times 10^9/л$) имел место в 26% случаев ($n = 36$), а среди больных, у которых не оказалось ХМЛ, в 8 случаях был выраженный лейкоцитоз — более $50 \times 10^9/л$. Остальной диапазон показателей гемограммы, а также клинических данных в двух группах больных был схож.

Выводы. Полученные данные подтверждают сходные клинико-гематологические параметры у больных с Ph-позитивным ХМЛ и некоторых случаев различных Ph-негативных заболеваний. Это указывает на необходимость молекулярно-цитогенетической верификации ХМЛ, даже при классической клинико-гематологической картине этого заболевания.

Медико-генетический прогноз в семьях, имеющих детей с несбалансированными аномалиями генома

Воинова В.Ю.^{1,2,3}, Юров И.Ю.^{1,2,3}, Ворсанова С.Г.^{1,2,3}, Новиков П.В.¹

¹ НИКИ педиатрии РНИМУ им. Н.И. Пирогова

² Московский городской психолого-педагогический университет

³ Научный центр психического здоровья РАМН

voinova@yandex.ru

На основании результатов обследования семей с детьми, у которых обнаружены несбалансированные аномалии генома (CNV), разработан алгоритм медико-генетического консультирования (МГК) семей с данной патологией. Уточняется, унаследованы ли CNV от родителей или обусловлены новыми мутациями (1-й этап). При возникновения CNV *de novo* риск повторного рождения больного ребенка в семье равен общепопуляционному. Если CNV унаследован от родителя, необходимо тщательное обследование последнего на предмет наличия патологических симптомов (2 этап). В случае, когда родитель имеет клинические проявления заболевания, аналогичные пробанду, риск для последующих беременностей составляет 50% для CNV, связанных с аутосомами; при X-сцепленных CNV, если больна мать, риск заболевания составит 50% для детей обоих полов, но тяжесть проявления патологии у дочери зависит от особенностей X-инактивации. Ряд Y-сцепленных

заболеваний отца (бесплодие ввиду делеции локуса AZF на хромосоме Y) передаются сыновьям. Наиболее сложны для определения риска случаи унаследованных геномных аномалий, когда родитель является здоровым носителем:

1) при неполной пенетрантности CNV риск заболевания у будущих детей может достигать 50%;

2) при варьирующей экспрессивности родитель-носитель CNV может иметь лёгкие симптомы болезни, следовательно риск — до 50%;

3) возможны эффекты импринтинга — болезнь будет проявляться только при наследовании CNV от родителя определённого пола;

4) у пробанда, имеющего CNV, могут проявляться симптомы аутосомно-рецессивного заболевания, вторая (точковая) мутация не определяется методом молекулярного кариотипирования, и риск для будущих детей 25%;

5) при мозаицизме по CNV у родителя риск повторных случаев заболевания повышен, если патологический клон клеток затрагивает гонады родителя;

6) могут обнаружиться CNV, сцепленные с хромосомой X, у пациента мужского пола, унаследованные от клинически здоровой матери. Отсутствие болезни матери может быть результатом преимущественной инактивации хромосомы X, несущей мутацию. В этом случае риск передачи заболевания матерью её сыновьям — 50%.

Изучение изменений в экспрессии генов, связанных с функционированием ГАМК-ергической системы, под действием селанка

Волкова А.П., Коломин Т.А., Шадрин М.И., Слюминский П.А., Лимборская С.А., Мясоедов Н.Ф.

ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, Москва
anastas.volkova@gmail.com

Синтетический аналог природного иммуномодулятора тафцина селанк оказывает на организм воздействие, сходное с действием классических анксиолитиков бензодиазепинового ряда, механизм действия которых связан с работой ГАМК-ергической системы, и при этом не имеет характерных для них побочных эффектов. Это позволяет предположить, что в основе механизма действия селанка лежит его способность модулировать работу ГАМК-ергической системы на разных уровнях. Ранее была проведена оценка действия селанка и ГАМК на экспрессию 84 генов, вовлечённых в нейрорецепцию и регуляцию работы ГАМК-ергической системы в мозге крыс через 1 и 3 часа после введения данных соединений.

В результате анализа ПЦР-панели нами были отобраны 10 генов, уровень мРНК которых изменился более чем в 2 раза в ответ на введение селанка или ГАМК: *Adcy7*, *Cx3c11*, *Gabra6*, *Gabrb1*, *Gabrb3*, *Gabre*, *Gabrg*, *Hcrtr*, *Slc6a1*, *Slc6a11*. Мы провели детальную оценку профиля экспрессии этих генов через 1, 3, 6 и 24 часа после введения ГАМК, селанка и его короткого фрагмента Gly-Pro методом ПЦР в реальном времени. Для большинства генов профили изменения экспрессии совпадают на всех временных интервалах. Наблюдается наиболее выраженное изменение уровня мРНК генов, кодирующих некоторые субъединицы ГАМК-A рецептора: *Gabrg*, *Gabre* и *Gabra6*, а также гена *Hcrtr*, кодирующего белок-предшественник нейротензина орексина А и орексина В. Тем не менее, ГАМК и селанк не оказывают абсолютно идентичного действия на экспрессию исследуемых генов. Можно выделить несколько генов, для которых имеются существенные различия в уровне мРНК (*Gabra6*, *Gabrb1*, *Gabrb3*).

Таким образом, можно сделать вывод о том, что селанк оказывает влияние на ГАМК-ергическую систему, подобное самой ГАМК, но в то же время и обладает собственными эффектами.

Культивирование и дифференцировка *in vitro* изменяют расположение центромер в ядрах мезенхимных стволовых клеток человека

Вольдгорн Я.И.¹, Адильгереева Э.П.², Некрасов Е.Д.³, Лавров А.В.^{1,2}

¹ Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва amrita@yandex.ru

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», Москва

³ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский физико-технический институт (государственный университет)», Москва

В клеточном ядре хромосомы расположены упорядоченным образом. Накоплено достаточно убедительных доказательств того, что пространственная укладка хромосом выполняет роль эпигенетической регуляции экспрессии генов. Цель настоящей работы — определение различий во внутриядерной локализации центромер хромосом 6, 12, 18 и X в мезенхимных стволовых клетках человека (МСК) в зависимости от сроков культивирования и направления дифференцировки *in vitro*. Мы проанализировали положение центромер четырех хромосом более чем в 4000 ядер 19 культур МСК до и после дифференцировки в остеогенном и адипогенном направлениях, также после длительного культивирования более 7 пассажей. Мы обнаружили, что центромера хромосомы X на поздних пассажах и после остеогенной дифференцировки находится ближе к центру ядра, а центромеры хромосом 12 и 18 после адипогенной дифференцировки смещаются к периферии ядра. Выявленные различия строения ядра являются новыми характеристиками МСК и могут отражать изменения регуляции экспрессии генов во время дифференцировки и культивирования. Мы продемонстрировали, что МСК, как и многие другие изученные ранее клетки имеют неслучайное расположение центромер хромосом в ядре и это расположение различается в зависимости от стадии культивирования или дифференцировки.

Организация работы медико-генетической консультации в Приморском крае

Воронин С.В., Воронина В.Г., Ибрагимова Е.М.

ГАУЗ «Краевой клинический центр специализированных видов медицинской помощи», Департамент здравоохранения Приморского края, Владивосток, Россия, voroninsvlad@mail.ru

Медико-генетическое консультирование является одним из важнейших видов специализированной медицинской помощи, направленных на снижение заболеваемости, инвалидности и смертности. Краевая медико-генетическая консультация Приморского края (КМГК), созданная в 1977 г., и входящая в настоящее время в состав ГАУЗ «ККЦ СВМП» обслуживает население Приморского края (1 938 516 чел. в 2014 г., родов более 24,5 тыс.). КМГК включает в себя подразделения: консультативное отделение, отделение пренатальной диагностики, лаборатории: цитогенетическая, массового скрининга НБО, селективного скрининга НБО, массового биохимического скрининга беременных, молекулярно-генетических методов исследования. В КМГК работает 5 врачей генетиков, 4 цитогенетика, 4 лабораторных генетика биохимика, 2 врача акушера-гинеколога по ИПД, 4 врача УЗИ, психолог. Укомплектованность врачами составляет 100%. Ежегодно врачи генетики консультируют более 5000 семей, 90% из них ретроспективно, несмотря на то, что в КМГК разработаны и выполняются программы по

обследованию семейных пар для планирования потомства. До 2013 г. выполнялось до 400 ИПД ежегодно для выявления хромосомной патологии плода. С 2014 г. запущен пренатальный скрининг, что позволило сократить число ИПД на 30%, а выявление хромосомной патологии увеличить до 18%. Проводится до 6000 УЗИ плода ежегодно. Все беременные с плодами с ВПР и хромосомной патологией, направляются на перинатальный консилиум (ежегодно до 180) для принятия решения о тактике ведения беременной. Скрининг на наследственные болезни обмена (НБО) в Приморье проводится с 1994 г. на фенилкетонурию и врожденный гипотиреоз. С 2006 г. на 5 НБО. Ежегодно выявляется около 20 больных детей. Ежегодно обследуются более 1500 пациентов молекулярно-генетическими методами на частые наследственные болезни (в том числе пренатально) и полиморфизмы генов сложнос наследуемых заболеваний. С 2015 г. планируется начало обследования пациентов методом тандем-масс-спектрометрии.

Первый случай рождения здорового ребенка у матери с фенилкетонурией в Приморском крае

Воронина В.Г., Воронин С.В.

ГАУЗ «Краевой клинический центр специализированных видов медицинской помощи», Краевая медико-генетическая консультация, Владивосток, Россия, vorovinavg@mail.ru

Приводятся результаты ведения беременности первой пациентки с ФКУ в крае. Пациент В. родилась 10.12.85 г. Состоит на учёте в Краевой медико-генетической консультации (КМГК) с 25.08.8 года. Обратились в КМГК в связи с задержкой психоречевого развития. Был выставлен диагноз фенилкетонурия. Было назначено лечение. Диету соблюдала не полностью. Показатели фенилаланина в крови были от нормальных до повышенных. Является инвалидом с детства. Проведено исследование генов: генотип: R408W(+/-). Беременность планировала с августа 2011 г. Стала строго соблюдать диету, стала принимать белковые гидролизаты, вести пищевой дневник. С декабря 2011 г. эти показатели стали стабильно 2,0—2,4 мг/л. Все рекомендации, для пациентов, планирующих беременность, выполняла. В феврале «муж не выдержал испытание диетой» у пациента, брак распался. В 2013 г. снова вступила в брак. Генотип супруга семья решила не определять. От ИПД по определению генотипа плода отказались. Наступление запланированной беременности. Во время беременности было выполнено 92 исследования крови на фенилаланин. Минимальное значение — 0,5 мг/л, максимальное значение — 5,8 мг/л. Наблюдение за плодом проводилось по стандарту. Роды на 40 неделе живым доношенным мальчиком. Вес 3150, рост 53, окружность головы 36. У ребёнка ФКУ исключена. Наблюдение в течение первого полугодия — развитие ребёнка соответствует возрасту.

Таким образом, выполнение рекомендаций врача, дисциплина и желание позволили женщине с фенилкетонурией иметь здорового ребёнка.

Мутации и потеря гетерозиготности в гене-онкосупрессоре TP53 при диффузной В-крупноклеточной лимфоме

Воропаева Е.Н., Поспелова Т.И., Воевода М.И., Максимов В.Н.

ФГБУ «НИИ терапии и профилактической медицины» СО РАМН, 630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова 175/1
ГБОУ ВПО НГМУ Минздрава России, 630091, г.Новосибирск, Красный проспект, 52
vena.81@mail.ru

Внедрение Ритуксимаба в протоколы терапии диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДВККЛ) не смогло преодолеть

неблагоприятного прогностического значения мутаций в гене *TP53* (Ferrerri A. et al., 2013). В текущей версии IARC TP53 Mutation Database R17 информация о частоте и спектре мутаций в гене *TP53* при ДВККЛ в Российской популяции не представлена.

Цель исследования: описать частоту и спектр мутаций в гене *TP53* у больных ДВККЛ г.Новосибирска и оценить их возможную функциональную значимость.

Пилотную группу обследования составили 14 пациентов с ДВККЛ. Материалом для исследования служила ДНК, выделенная из парафиновых срезов опухолевой ткани. Поиск мутаций в кодирующей последовательности экзонов 5-10 и примыкающих участков интронов гена *TP53* проводился методом прямого автоматического секвенирования по Сэнгеру. Дополнительно изучался микросателлитный маркер D17S796 в опухолевой и здоровой тканях больных ДВККЛ.

У двух пациентов были выявлены однонуклеотидные замены, не описанные в базе данных PubMed. У одного больного замена представляла собой нонсенс-мутацию Arg196Term, приводящую к образованию стоп-кодона и досрочно терминирующую трансляцию. У второго пациента выявлены две миссенс-мутации в гомозиготном состоянии. Обе мутации — Leu130Phe и Arg156Cys — приводили к аминокислотным заменам в ДНК-связывающем домене белка, первая из которых, согласно данным анализа функциональной значимости аминокислотной замены с помощью сервиса PolyPhen-2 (Adzhubei I.A. et al., 2010), с высокой долей вероятности приводит к инактивации p53. Анализ микросателлитного маркера D17S796, расположенного в локусе 17p13.1, в опухолевой и здоровой тканях больных ДВККЛ, показал, что у пациента с мутациями Leu130Phe и Arg156Cys имеется потеря гетерозиготности в гене *TP53*.

Спектр патогенных вариаций числа копий последовательностей ДНК (CNVs) у детей с аутистическими расстройствами: результаты молекулярно-цитогенетических и биоинформатических исследований

Ворсанова С.Г.^{1,2,3}, Юров Ю.Б.^{1,2,3}, Зеленова М.А.^{1,2,3}, Демидова И.А.^{1,2,3}, Сильванович А.П.¹, Коростелев С.А.⁴, Воинова В.Ю.^{1,2}, Юров И.Ю.^{1,2,5}

¹ Обособленное структурное подразделение «НИКИ педиатрии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России

² ФБГНУ «Научный центр психического здоровья»

³ Московский городской психолого-педагогический университет

⁴ Первый МГМУ им. И.М. Сеченова

⁵ Российская медицинская академия последипломного образования, Москва

Несмотря на успехи в области медицинской генетики и геномики, исследования вариаций числа копий последовательностей ДНК (CNVs) (анализ «вариома») при мультифакторных заболеваниях не потеряли своей актуальности. В настоящей работе было проведено подобное исследование аутистических расстройств с помощью высокоразрешающего SNP молекулярного кариотипирования и биоинформатических технологий. Оценка молекулярных и клеточных последствий CNVs проводилась посредством транскрипционного, интерактомного и метаболомного анализа генов, вовлечённых в перестройки, с помощью оригинальных молекулярно-цитогенетических *in silico* технологий (Iourov et al., *Molecular Cytogenetics*, 2014, 7:98). Патогенные CNVs и хромосомные аномалии были обнаружены у 93 (37,2%) из 250 детей. Были выявлены делеции 6p11.2 (*PRISM2*), 9q21.13 (*GDA*, *ZFAND5*, *TMC1*), 8p23.3p23.1 (46 генов), Xp22.12 (*RPS6KA3*, *CNKSR2*) и дубликации Yq11.223q11.23 (в 10 случаях). Исследование инtragenных делеций и дубликаций определило сле-

дующие гены-кандидаты аутизма: *CBARA1*, *KRT83*, *RBFOX1*, *ATP6V1E1*, *CNKSR2*, *ATP1A2*, *FBXO21*, *ACSL3*, *ATP2B3*, *IMPA1*, *CNTNAP4*. Биоинформатический анализ показал, что изменения геномных сетей стабильности генома, апоптоза, регуляцией клеточного цикла, репарации и репликации ДНК и аксонального наведения могут являться молекулярными и клеточными механизмами аутизма. Таким образом, был сделан вывод о том, что «вариомный анализ» с помощью сканирования генома и биоинформатических технологий является перспективным подходом к определению механизмов клинически и генетически гетерогенных заболеваний. Примечательно, что данные об ассоциации аутизма с нарушением геномных сетей регуляции деления/гибели клеток и сохранения стабильности генома в такой репрезентативной выборке представлены впервые. Полученные данные также подтверждают предположение о том, что использование биоинформатических технологий является необходимым элементом фундаментальных и диагностических исследований геномной патологии.

Исследование осуществлено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант №14-35-00060).

Клинико-генетическая характеристика мукополисахаридоза IVA типа (синдром Моркио А) у больных из России

Воскобоева Е.Ю.², Семьякина А.Н.¹, Новиков П.В.¹, Захарова Е.Ю.²

¹ Обособленное структурное подразделение — НИКИ педиатрии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава России,

125412, Москва, Талдомская ул., д. 2

² ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН,

115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1

E-mail: pnovikov@pedklin.ru

Цель: определить спектр мутаций в гене галактозамин-6-сульфатазы (*GALNS*) у больных с синдромом Моркио А (мукополисахаридоз тип IVA) и выявить клинико-генетические особенности у пациентов с этой орфанной болезнью на копления.

Под наблюдением находилось 14 больных с синдромом Моркио А в возрасте от 2 до 34 лет (соотношение полов 1:1). Все больные имели типичные признаки «моркиоподобного» фенотипа: карликовый рост, килевидную деформацию грудной клетки, вальгусную установку коленных суставов, короткую шею, увеличение объёма и тугоподвижность крупных суставов и гиперподвижность мелких (межфаланговых), грубоватые черты лица, умеренную гепатоспленомегалию, помутнение роговицы и тугоухость. ДНК-диагностика была проведена у 8 больных из семи семей.

Было выявлено 13 мутантных аллелей, три мутации в гене *GALNS* пока определить не удалось. Из 13 обнаруженных мутаций 12 не были ранее описаны. Характер выявленных мутаций был следующим: 7 — миссенс-мутаций; 2 мутации сайта-сплайсинга и 4 мелкие делеции.

У двух больных сибсов была обнаружена делеция *c.1516delA* в гомозиготном состоянии. Заболевание отличалось тяжестью течения и снижением интеллекта, которое, как правило, не свойственно пациентам с синдромом Моркио А. Младший ребёнок с умеренно прогрессирующей в возрасте 2,5 лет. По данным анамнеза, его старшая сестра погибла также внезапно в 10 лет при идентичной симптоматике. Вскрытие по религиозным убеждениям семьи не проводилось.

Эпидемиология атрезии пищевода в Российской Федерации

Выдрыч Ю.В.¹, Демикова Н.С.², Асанов А.Ю.¹

¹ ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, jvydrych@mail.ru

² ОСП Научно-исследовательский клинический институт педиатрии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва

Атрезия пищевода и трахеоэзофагеальный свищ (АП/ТЭС) представляют собой жизнеугрожающие пороки развития, частота которых составляет приблизительно 1 на 3500–4000 родов. В большинстве случаев этиология АП/ТЭС неизвестна. Примерно в половине случаев имеются сопутствующие аномалии развития (неизолированные АП), самые частые из которых — пороки развития сердца. В остальных случаях АП/ТЭС встречаются в изолированной форме.

Цели исследования: определить популяционные частоты врождённых пороков развития желудочно-кишечного тракта у детей в регионах Российской Федерации по данным мониторинга ВПР; изучить эпидемиологические характеристики врождённых пороков развития желудочно-кишечного тракта у детей.

Период наблюдения включал 2000–2012 гг. В анализ были включены данные 32 регионов РФ, участвующих в проведении мониторинга ВПР. Общее число рождений за этот период составило 8 124 158. Среди них зарегистрировано 1596 случаев атрезии пищевода. Частота порока определялась как отношение общего числа случаев среди живорождённых и мертворождённых к числу всех рождений, умноженное на 1000.

Впервые получены региональные частоты атрезии пищевода. Средняя частота порока составила 0,19 на 1000 рождений, или 1 случай на 5099. Сравнительный анализ частот в регионах выявил различия в частоте атрезии пищевода. Интервал межрегиональных колебаний частот составил от 0,13 до 0,28 на 1000. В то же время уровень суммарной частоты атрезии пищевода в течение 13 лет наблюдений значимо не изменялся. Проведён сравнительный анализ данных с данными зарубежных регистров EUROCAT и ISBDSR. Получены некоторые эпидемиологические характеристики порока.

Синдром Мардена—Уокера

Гавран Н.А.², Ледящева Т.А.^{1,2}

¹ ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова

² СПб. ГКУЗ Диагностический центр (медико-генетический)

E-mail: n.gavran@mail.ru

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

Синдром Мардена—Уокера (Marden—Walker syndrome) (MWS) (OMIM: 248700; МКБ-10: Q87.0) — редкое наследственное заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования. С момента описания P.N. Marden и W. Walker (1966) опубликовано всего 30–50 наблюдений. Распространённость MWS менее 1:1 000 000. Основной патологический механизм MWS не установлен, но имеются данные о мутациях гена механически-чувствительного ионного канала пьезо-типа, компонента-2 (PIEZO2; 18p11). Минимальные диагностические признаки: блефарофимоз и множественные контрактуры суставов. Однако, комплекс наследственных аномалий MWS включает различные костно-суставные аномалии, лицевые дизморфии, врождённые пороки развития центральной нервной системы (ЦНС), сердца и почек, мышечную гипотонию, постнатальную задержку роста, психомоторного и речевого развития (ЗПМРР). Типичный возраст начала — неонатальный период/первые годы жизни.

Мы с 5 лет наблюдаем пробанда женского пола. Из анамнеза: срочные роды, масса тела 3350,0 г, длина 56 см. К груди не прикладывали, из р/дома переведена в детскую больницу, где лечилась до 3,5 мес. по поводу гипохромной анемии. Развивалась с грубой ЗПМРР: голову держит с 6 мес., сидит с 1 года,

ходит самостоятельно с 2,5 лет. Моторные навыки начали формироваться с 3,5 лет. Речь: после 3 лет появились односложные слова. Первые зубы прорезались в 1 год 2 мес., большой родничок закрылся в 1,5 года. Генетиком наблюдалась с 2 мес., исключена хромосомная патология (кариотип 46,XX, нормальный, женский). Диагноз MWS заподозрен около 2 лет на основании блефарофимоза, контрактуры I пальца кисти, деформации пальцев стоп, микростомии, высокого арковидного неба, диспластичных низко расположенных ушных раковин, мышечной гипотонии. В динамике MWS прогрессирует: появились контрактуры коленных суставов и нарушение походки, снижаются сухожильные рефлексы с в/и и н/конечностей, нарастает ожирение, ЗПМРР. Рентгенологически выявляются вывихи, деформация надколенников. ЭНМГ: признаки миелодисплазии L4-L5, S1-S2. ЭКГ: феномен укорочения PQ, метаболическая миокардиодистрофия. Изменения глаз представлены блефарофимозом, страбизмом, астигматизмом. Регулярно проводится ортопедическая коррекция, способствующая уменьшению контрактур, санаторно-курортное лечение, симптоматическая терапия — состояние стабильное.

Целесообразность использования дополнительных видов дифференциального окрашивания хромосом при анализе кариотипа

Гайнер Т.А.^{1,2}, Матвеева В.Г.^{1,2}, Каримова О.Г.^{1,2}, Рубцов Н.Б.³, Карамышева Т.В.³

¹ ИХБФМ СО РАН, г.Новосибирск, tatyana@cnmt.ru

² АНО «Центр новых медицинских технологий (ЦНМТ) в Академгородке», г.Новосибирск

³ ИЦГ СО РАН, г.Новосибирск

В большинстве российских лабораторий медицинской генетики для исследования кариотипа используется GTG-окрашивание хромосом. Дополнительные методы (CBG-, Ag-NOR-) не всегда легко воспроизводимы, требуют дополнительных затрат реактивов и рабочего времени и потому используются нечасто. Однако в некоторых случаях их применение абсолютно необходимо, позволяет уточнить кариотип пациента и прогноз.

Случай 1. У плода в одной из лабораторий г.Новосибирска была выявлена хромосома 21 с дополнительным материалом на р-плече (транслокация?). Такая же хромосома найдена у первого ребёнка в семье (10 лет, умственная отсталость) и у отца. Дополнительные виды окрашивания не использовались, семья склонялась к прерыванию беременности. В цитогенетической лаборатории ЦНМТ при повторном кариотипировании отца было выполнено Ag-NOR-окрашивание, выявившее на коротком плече хромосомы 21 двойные спутничные нити и двойные спутники (экстремальный вариант нормального полиморфизма хромосом). Вопрос о транслокации был снят, беременность у супругов сохранена.

Случай 2. У пациента с бесплодием при кариотипировании в одной из лабораторий г.Новосибирска был выявлен добавочный материал на р-плече хромосомы 20 (транслокация?). Дополнительные виды окрашивания не использовали, пациенту отказали в проведении ЭКО и отправили на молекулярную диагностику. В цитогенетической лаборатории ЦНМТ было выполнено CBG-окрашивание, которое показало, что дополнительный материал — это увеличенный прицентромерный гетерохроматин (нетипичный вариант). Кариотип пациента: 46,XY,20cenh+. Вопрос о транслокации снят, молекулярная диагностика не потребовалась.

Случай 3. У ребёнка 2 лет с предварительным диагнозом «расщелина мягкого неба, трисомия хромосомы 22» (кариотипировали в г.Благовещенске) при исследовании в цитогенетической лаборатории ЦНМТ была выявлена сверхчисленная маркёрная хромосома (MX), несколько похожая на хромосому 22 (кариотип 47,XY,+?invdup(13 or 14 or 15 or 21 or 22)). Это подтвердили два дополнительных вида дифференциального

окрашивания хромосом. Для додиагностики в ИЦиГ провели супрессионную гибридизацию *in situ* микродиссекционных ДНК-проб, приготовленных ранее из двух МХ invdup(15)(q11) и invdup(15)(q13). Полученные данные указывают наличие в составе МХ материала эухроматинного района хромосомы 15(q11→q13). Кариотип пациента: 47,XY,+invdup(15)(q13). Дополнительные виды окрашивания позволили выбрать недорогой, простой и быстрый метод додиагностики.

ДНК-диагностика миотонической дистрофии 2-го типа

Галеева Н.М.¹, Забненкова В.В.¹, Руденская Г.Е.¹,
Дедаев С.И.², Поляков А.В.¹

¹ ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Москва

² Московский миастенический центр (ГКБ №51)
rudenskaya@med-gen.ru

Миотоническая дистрофия 2-го типа (МД2) — аутосомно-доминантная болезнь, связанная с экспансией повторов ЦЦТГ в гене *ZNF9*. МД2 встречается гораздо реже «классической» МД1, но достаточно распространена у европейцев. Фенотип имеет отличия от МД1: более позднее начало (в среднем 45–50 лет), поражение проксимальных мышц (другое название — PROMM: проксимальная миотоническая миопатия), миалгия, редкость вовлечения мимических и бульбарных мышц, отсутствие когнитивных расстройств и другие; в отличие от МД1, нет связи числа повторов с тяжестью болезни и антиципации. В лаборатории ДНК-диагностики МГНЦ верифицировано 26 случаев в 20 семьях, у части больных МД2 предполагается в МГНЦ, у большинства — в других учреждениях. Разработанная в лаборатории трёхпраймерная система выявления мутации, где один из праймеров одновременно комплементарен повтору и меченому праймеру, позволяет быстро обнаружить увеличение размеров вставки методом фрагментарного анализа на секвенаторе. Тем самым регистрируется наличие мутации, но, как и при других болезнях динамических мутаций с очень большой вставкой (МД1, атасия Фридрейха), не определяется число повторов в мутантном аллеле; для МД2 это не является недостатком, так как размер вставки не имеет прогностического значения. Течение и симптоматика варьируют, стёртые и очень поздние случаи маскируют тип наследования. Так, фенотип и родословная двух сестёр имитировали позднюю рецессивную конечностопоясную мышечную дистрофию, лишь катаракта у обеих указывала на МД2. Особо интересен случай гомозиготности по мутации *ZNF9* у больного 72 лет из еврейской неинбредной семьи. Отец погиб в 31 год, у умершей в 86 лет матери и сибсов симптомов МД2 не было, трое детей в настоящее время здоровы. У больного в 65 лет случайно выявлена высокая КФК (600—1000 Ед/л), с 70 лет медленно слабеют и худеют тазовые и плечевые мышцы, бывают миалгия и скованность в кистях; в 68 лет оперирован по поводу катаракты ОУ; были единичные приступы аритмии; облысение с юности; в статусе: умеренная слабость мимических и проксимальных мышц, рефлексы сохранены, миотония не выявлена; при ЭМГ — признаки миопатии и миотонии. Наблюдения гомозиготности при МД2 единичны (Schoser B et al., 2004; Lee T et al., 2012). Как и в данном случае, клиническая картина у гомозигот была не тяжелее, чем у гетерозигот, за исключением атипично выраженной патологии сердца в одной семье, чего в данном случае нет.

Вклад вариаций числа копий генов бета-дефензинов в патогенез псориаза

Галимова Э.С., Хуснутдинова Э.К.

УФГУБН Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН,
450054, Уфа, пр. Октября, 71, тел./факс: +7 (347) 2356088;
elya-4@yandex.ru

Дисбаланс белков hBD, кодируемых генами дефензинами, является частью воспалительной реакции в коже при псориазе. Дефензины — катионные пептиды иммунной системы, активные в отношении бактерий, грибов и многих оболочечных и без оболочечных вирусов. Изменение числа и активности дефензинов нередко наблюдается при различных заболеваниях, в том числе и при псориазе. Исследование CNVs позволит уточнить роль генов бета-дефензинов *DEFB*, поскольку число их копий ранее почти не учитывалось, и тем самым сузить круг генов-кандидатов. Изменение числа копий определённого локуса может оказывать влияние на фенотип. Этот происходит посредством изменения количества продуктов дозочувствительных генов или изменения регуляции экспрессии генов, если локус содержит регуляторный элемент.

Нами были проанализированы вариации числа копий генов семейства бета-дефензинов *DEFB1*, *DEFB4*, *DEFB103A*, *DEFB104A* в целом, с учётом возраста манифестации и тяжести течения заболевания. Анализ числа копий генов бета-дефензинов был выполнен с использованием ПЦР в реальном времени RT-PCR на QuantStudio 12K Flex и Custom TaqMan Copy Number Assay service (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) согласно протоколу производителя. TaqMan Copy Number assay детектирует ген-мишень или интересующую последовательность, и Reference assay детектирует известную последовательность, которая существует в двух копиях на диплоидный геном. Для оценки числа копий целевой последовательности в каждом тестируемом образце использовался сравнительный Ct (дельта Ct) метод. Этот метод определяет количество последовательности нуклеиновой кислоты (мишени) в тестируемом образце по отношению к той же последовательности в образце-калибраторе. Эксперименты проводили в 3-кратной повторности для каждого образца. Число копий были рассчитаны с использованием программного обеспечения CopyCaller версии 1.0 (<http://www.appliedbiosystems.com> Life Technologies, Applied Biosystems, USA), основанного на предположении, что существуют две копии фрагмента ДНК в образце-калибраторе — RNaseP. В качестве контрольного гена или референсного гена мы использовали TaqMan RNaseP Control (Applied Biosystems). Для RT-PCR использовали реакционную смесь объёмом 20 мкл, которая содержала 1 кратный TaqMan Genotypig PCR MasterMix (Life Technologies Corporation, CA, USA), 100 nM пробы для гена мишени, 250 nM пробы для референсного гена и 40 ng геномной ДНК.

Проведённый нами анализ CNV показал, что распределение копий генов *DEFB4* и *DEFB103A* среди больных псориазом и здоровых доноров были статистически разными ($\chi^2 = 37,27$, $p = 0,030$ и $\chi^2 = 27,17$, $p = 0,001$ соответственно), и варьировали между 1 и 14 копиями в выборке больных псориазом, и между 2 и 7 копиями в выборке здоровых доноров. Было показано, что увеличение числа копий генов *DEFB4*, *DEFB103A* ассоциирует с повышенным риском развития псориаза ($p < 0,05$). Кроме того сравнительный анализ между различными клиническими группами больных псориазом выявил, что увеличение числа копий гена *DEFB4* в экзоне 1 статистически значимо ассоциирует с тяжестью заболевания ($p < 0,0001$).

Роль полиморфных вариантов генов NO-синтаз в патогенезе псориаза

Гапанович Е.С.¹, Соболев В.В.^{2,3}, Кокаева З.Г.¹,
Сакания Л.Р.⁴, Корсунская И.М.⁴, Климов Е.А.^{1,2}

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия
gapanovichkaterina@gmail.com

² Университетская диагностическая лаборатория, Москва, Россия
³ ФГБУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» РАМН, Москва, Россия

⁴ Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской Академии Наук, Москва, Россия

Оксид азота (NO) является одним из сильнейших вазодилаторов. Его активный синтез происходит на ранних стадиях раневого ответа, а также при воспалении. Функция NO заключается в локальной вазодилации при повреждении и воспалении, что способствует привлечению, в том числе участвующих в иммунном ответе, клеток и инициации воспаления. NO не имеет рецепторов, напрямую взаимодействуя с растворимой гуанилатциклазой гладкомышечной клетки сосуда, приводя к активации сигнального пути вазодилации. При псориазе выявлено увеличение содержания NO в патологических тканях. Это влияет на постоянное поддержание воспалительного процесса в поражённой коже. Семейство NO-синтаз включает 3 белка: нейрональная, индуцибельная и эндотелиальная NO-синтазы, кодируемые генами *NOS1*, *NOS2* и *NOS3* соответственно. В коже экспрессируются *NOS2* и *NOS3*. Целью нашей работы являлся анализ SNP в генах *NOS2* (rs2779249, с.-1290G>T, 5'-область) и *NOS3* (rs2070744, с.-813C>T, интрон 1) методом ПЦР в реальном времени со специфичными зондами (синтезированы в ООО ДНК-Синтез). В работе использованы образцы ДНК 88 пациентов с псориазом и 349 необследованных доноров в качестве контроля.

Выявленные частоты аллелей и генотипов представлены в таблице.

<i>NOS2</i>	Пациенты	Контроль	<i>NOS3</i>	Пациенты	Контроль
Аллель А	0,330	0,294	Аллель А	0,420	0,450
Аллель С	0,670	0,706	Аллель G	0,580	0,550
Генотип AA	0,091	0,080	Генотип AA	0,000	0,003
Генотип AC	0,477	0,427	Генотип AG	0,841	0,389
Генотип CC	0,432	0,493	Генотип GG	0,159	0,103

Для исследованных SNP не выявлено ассоциаций с заболеваниями ($p > 0,1$ во всех случаях).

При этом нами выявлено значительное отклонение частот генотипов замены в гене *NOS3* от равновесия Харди—Вайнберга: пациенты — 46,32 ($p = 0$), контрольная группа — 225,86 ($p = 0$).

Таким образом, нами не выявлено связи исследованных замен с псориазом, что свидетельствует об отсутствии их роли в патогенезе данного заболевания.

Результаты аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (АТГСК) у пациентов с множественной миеломой (ММ) моложе 65 лет в зависимости от риск-стратификации по модифицированным шкалам mSMART 1.0 и mSMART 2.0

Гарифуллин А.Д.¹, Мартынкевич И.С.¹, Волошин С.В.¹, Мартыненко Л.С.¹, Кувшинов А.Ю.¹, Стельмашенко Л.В.¹, Клеина Е.В.¹, Салогуб Г.Н.², Карягина Е.Л.³, Шмидт А.В.¹, Кузьяева А.А.¹, Бессмельцев С.С.¹, Абдулкадыров К.М.¹

¹ ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова, Санкт-Петербург, Российская Федерация

³ Городская больница №15, Санкт-Петербург, Российская Федерация

У 70% больных ММ выявляются хромосомные aberrации, часть из которых имеет прогностическое значение, что позволяет стратифицировать больных в отдельные группы риска и подбирать

оптимальную стратегию лечения. Одним из методов эффективной терапии у больных ММ моложе 65 лет является АТГСК.

Цель — сравнить общую выживаемость больных ММ моложе 65 лет с и без АТГСК согласно модифицированной риск-стратификации.

Ретроспективно проанализирован 121 пациент моложе 65 лет (26—65 лет, медиана — 56 лет, соотношение мужчины/женщины — 1:1.24). Генетические аномалии выявлялись при рутинном цитогенетическом и FISH анализах. Стратификация пациентов в группы риска проводилась согласно модифицированной молекулярной классификации mSMART^{mod} 1.0 и mSMART^{mod} 2.0. В обеих системах в группу высокого риска дополнительно вошли пациенты с комплексным характером хромосомных aberrаций — 3 и более хромосомных aberrаций.

В группе пациентов после АТГСК (одиночной или тандемной) ($n = 45$) 5-летняя ОВ составила 92%, а в группе без АТГСК ($n = 76$) — 86% ($p = 0,14$). 5-летняя ОВ в группах стандартного риска (mSMART^{mod} 1.0 и 2.0) у пациентов с АТГСК ($n = 34$) и без АТГСК ($n = 65$) составила 87% и 83% соответственно ($p = 0,68$). В группе высокого риска (mSMART^{mod} 1.0) 5-летняя ОВ у пациентов с АТГСК ($n = 11$) — 100%, без АТГСК ($n = 11$) — 55% ($p = 0,04$). Результаты 5-летней ОВ (mSMART^{mod} 2.0) в группе промежуточного риска у пациентов с АТГСК ($n = 9$) составила 100%, без АТГСК ($n = 7$) — 64% ($p = 0,12$). В группе высокого риска (mSMART^{mod} 2.0) была оценена только 2-летняя ОВ пациентов с АТГСК и без, которая составила 100% и 50% соответственно ($p = 0,36$).

Опыт применения микроматричного экспрессионного профилирования малого количества клеток

Геращенко Т.С.^{1,2}, Jochen Wilhelm³, Денисов Е.В.^{1,2}

¹ Томский НИИ онкологии

² t.gerashenko@list.ru

³ Томский государственный университет, Томск, Российская Федерация

³ ECCPS Microarray Unit, Justus Liebig University Giessen, Giessen, Germany

Экспрессионное профилирование отдельных клеток является высокоэффективным средством в понимании механизмов формирования и развития онкологических заболеваний человека. Однако получение малого количества клеточного материала и, соответственно, недостаточной концентрации РНК является основным препятствием для успешной постановки экспрессионного анализа.

К настоящему моменту предложено несколько подходов для увеличения копияности образцов РНК, большинство из которых основано на использовании технологии полнотранскриптомной амплификации.

В настоящем исследовании применён микроматричный подход для экспрессионного профилирования малого количества клеток, разработанный в ECCPS Microarray Unit.

В качестве исследуемого материала использовалось 16 образцов в количестве 300—1000 опухолевых клеток, полученных из срезов опухоли молочной железы с помощью лазерной микродиссекции. РНК выделялась с помощью RNeasy Micro Plus Kit (Qiagen) и оценивалась с помощью системы автоматического электрофореза 2200 TapeStation (Agilent). Концентрация РНК варьировала от 700 до 2000 пг/мкл, показатель RIN — от 4 до 8. РНК подвергалась полнотранскриптомной амплификации (Ovation PicoSL WTA System V2, Nugen), концентрация полученной кДНК составляла 70—90 нг/мкл. Мечение кДНК проводилось с помощью Cy3 (SureTag DNA Labeling Kit, Agilent). Количество меченной ДНК варьировало от 190 до 270 нг/мкл, количество метки Cy3 — от 8 до 10 пМ/мкл. Выбор варианта мечения, разработанного изначально для микроматричной CGH, обусловлен получением в ходе полнотранскриптомной

амплификации молекул кДНК и, соответственно, невозможностью использования протокола Low Input Quick Amp Labeling (Agilent), рекомендуемого для экспрессионного анализа. Полученные образцы гибридизовались на микроматрицах SurePrint G3 v2 8x60k (Agilent), результаты сканирования подвергались гридингу, биоинформатическая обработка проводилась с помощью пакета программ R и расширения LIMMA.

Полученные результаты представлены в тезисах Денисова Е.В. и соавторов.

Описанный метод также подходит для экспрессионного профилирования единичных клеток.

Гены биогенеза микроРНК: их вклад в развитие некоторых онкоурологических заболеваний

Гилязова И.Р.¹, Кунсбаева Г.Б.², Климентова Е.А.¹, Измайлов А.А.³, Сафиуллин Р.И.³, Хасанов Э.Х.³, Карунас А.С.^{1,2}, Гималова Г.Ф.¹, Тахирова З.Р.¹, Бермишева М.А.¹, Миннихметов И.Р.¹, Павлов В.Н.³, Хуснутдинова Э.К.^{1,2}

¹ Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г.Уфа, пр.Октября, 71, e-mail: gilyasova_irina@mail.ru

² Башкирский государственный университет, г.Уфа, ул.Валиди, 32

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

Онкоурологические заболевания, наиболее частыми нозологическими формами которых являются рак предстательной железы (РПЖ), почечноклеточный рак (ПКР), рак мочевого пузыря (РМП), составляют почти четверть всех злокачественных новообразований человека и остаются одной из наиболее важных проблем клинической медицины.

С целью анализа роли микроРНК в развитии ПКР и РПЖ проведен анализ 30 полиморфных вариантов в 13 генах биогенеза микроРНК (*GPC1*, *FAM212B*, *DDX20*, *FAM57A*, *DROSHA*, *C5orf22*, *AGO1*, *AGO2*, *RAN*, *PIWIL1*, *DICER1*, *GEMIN4*, *DGCR8*) у 233 пациентов с ПКР (106 русских, 86 татар, 39 башкир) и 1042 здоровых индивидов (443 русских, 457 татар, 142 башкир), 266 пациентов с РПЖ (141 русский, 69 татар и 52 башкир) и 267 здоровых мужчин (74 русских, 137 татар, 56 башкир) с использованием TaqMan-технологии и системы OpenArray QuantStudio 12K Flex Real-Time PCR. Ассоциацию ОНП с болезнями анализировали при помощи пакета программ PLINK 1.07. Поправку на множественное тестирование вводили, используя метод FDR. В качестве статистически значимых принимались результаты при $FDR < 0,05$.

Для метаанализа результатов по трём выборкам русских, татар и башкир использовали программу WinPeri v.11.32. Наиболее высокий уровень ассоциации с развитием рака простаты во всех этнических группах (русские, татары, башкиры) наблюдается по полиморфному варианту rs2292832 ($p = 3,4 \times 10^{-5}$, 0,002 и $3,4 \times 10^{-4}$ соответственно), расположенному в первом интроне гена глипикана 1 (*GPC1*). Этот ген локализован на хромосоме 2. Протеогликаны экспрессируются на поверхности клеток млекопитающих и играют важную роль во взаимодействии между клетками, клетками и матриксом, а также сигнализации. Обнаружена также ассоциация rs595055 в гене *AGO1* ($p = 0,01$) с развитием РПЖ у башкир, rs1640299 в гене *DGCR8* ($p = 0,001$) у русских, rs11584657 в гене *FAM212B* ($p = 0,03$) и rs1057035 в гене *DICER1* у татар ($p = 0,03$ и $p = 0,04$). Наиболее высокий уровень ассоциации с развитием светлоклеточного рака почки у русских и татар выявлен по rs1057035 в гене *DICER1* ($p = 3,026 \times 10^{-5}$ и 0,03 соответственно). При проведении метаанализа результатов исследования полиморфных локусов генов биогенеза микроРНК у русских, татар и башкир

обнаружены статистически значимые различия между выборками больных РПЖ и здоровых по rs2292832 гена *GPC1* и rs1057035 гена *DICER1*. Гетерогенности между выборками по обоим локусам не найдено ($I^2 = 0,0\%$, $p = 4,376 \times 10^{-7}$) и метаанализ проводили по методу Мантеля—Хензеля. По локусу rs2292832 показатель отношения шансов для аллеля rs2292832*Т составляет 2,25 (95%CI 1,60—4,21), а для аллеля rs2292832*С — 0,38 (CI95% 0,24—0,62). В результате метаанализа выявлены статистически различия между выборками больных ПКР и здоровых по полиморфному локусу rs1057035 гена *DICER1* ($I^2 = 0,0\%$, $p = 1,643 \times 10^{-9}$), показатель отношения шансов для аллеля rs1057035*С составляет 2,13 (95%CI 1,55—2,93), а для аллеля rs2292832*Т-0,47 (CI95% 0,34—0,65). Так, метаанализ позволяет установить значимость полиморфных вариантов некоторых генов биогенеза микроРНК в развитии злокачественных новообразований РПЖ и ПКР.

Роль полиморфных локусов генов толл-подобных рецепторов и генов цитокинов в развитии atopического дерматита

Гималова Г.Ф.¹, Карунас А.С.^{1,2}, Гуменная Э.Р.³, Хантимерова Э.Ф.⁴, Хуснутдинова Э.К.^{1,2}

¹ Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г.Уфа, пр.Октября, 71; galiyagimalova@gmail.com

² Башкирский государственный университет, г.Уфа, ул. Валиди, 32

³ Республиканский кожно-венерологический диспансер, г.Уфа, Индустриальное ш., 42

⁴ Башкирский государственный медицинский университет, г.Уфа, ул.Ленина, 3

Атопический дерматит (АД) — распространённое хроническое воспалительное заболевание кожи, часто предшествующее аллергическим заболеваниям. В последние годы признается роль в развитии АД генов цитокинов, участвующих в развитии аллергического воспаления, и толл-подобных рецепторов, ответственных за запуск первичных защитных реакций врождённого иммунитета. Нами проведено исследование однонуклеотидных полиморфных вариантов (ОНП) генов цитокинов *IL4*, *IL4R*, *IL10*, *IL13*, *TNF*, *CCL11* и генов толл-подобных рецепторов *TLR1*, *TLR2*, *TLR4*, *TLR5*, *TLR6*, *TLR9*, *TLR10* у больных АД и в контрольной группе индивидов из Республики Башкортостан. Группа больных включала 303 пациента с АД различной степени тяжести, имеющих сопутствующие аллергические заболевания (АЗ) и без них, русской (177 чел.) и татарской (126 чел.) этнической принадлежности. Контрольную группу составил 261 индивид (152 русских и 109 татар) без признаков АЗ. Генотипирование ОНП осуществлялось методом ПЦР в реальном времени.

Наиболее значимые различия между группами больных АД и контроля выявлены у русских индивидов по ОНП rs5743571 гена *TLR1*: частота аллеля rs5743571*С составила 88,9% у больных и 72,9% в контроле ($p = 0,0004$), а генотипа rs5743571*С/С — 77,8% у больных АД и 54,2% в контроле ($p = 0,0021$). Кроме того, у русских больных АД, по сравнению с контролем, выше частота аллеля rs5743604*А ($p = 0,0432$) ОНП гена *TLR1*, аллеля rs5743794*С ($p = 0,0017$) и генотипа rs5743794*С/С ОНП гена *TLR6* ($p = 0,002$) и аллеля rs11466617*Т ОНП гена *TLR10* ($p = 0,0414$). У татар значимые различия между группами больных АД и контроля обнаружены при исследовании ОНП rs1816702 ($p = 0,0406$) и rs4696483 ($p = 0,0249$) гена *TLR2*. Анализ ассоциации ОНП генов цитокинов с развитием АД выявил статистически значимые различия в распределении частот аллелей и генотипов ОНП гена *IL10*. Показано, что у русских больных АД без сопутствующих АЗ с более высокой частотой, чем в контроле, определялся генотип rs1800872*А/С: 49,18% и 33,6% соответственно ($p = 0,0406$).

Вклад хромосомных нарушений в результаты аллогенной ТГСК у больных ОМЛ с неблагоприятной цитогенетической группой риска

Гиндина Т.Л., Мамаев Н.Н., Николаева Е.С., Петрова И.А., Бондаренко С.Н., Афанасьев Б.В.

ПСПбГМУ им акад. И.П. Павлова; НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой; Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6/8
tatgindina@gmail.com

Введение. Хромосомные нарушения (ХН) остаются важнейшим прогностическим фактором при остром миелоидном лейкозе (ОМЛ). Повторяющиеся хромосомные aberrации выделены в отдельные категории, определены понятия сложного и моносомного кариотипов (СК и МК) при ОМЛ, лечение которого вызывает наибольшие трудности.

Цель исследования. Изучить вклад ХН на результаты аллогенной ТГСК у больных ОМЛ с неблагоприятной цитогенетической группой риска.

Материал и методы. Обследовано 97 пациентов ОМЛ (53 мужчины, 44 женщины) с медианой возраста 25 лет (диапазон 1,5 — 60 лет), которым была проведена аллогенная ТГСК с 2008 по 2014 г. Исследовательскую группу сформировали больные ОМЛ с моносомией 7 ($n = 12$), 7q- ($n = 4$), 3q26 перестройками ($n = 4$), 5q- ($n = 10$), транслокациями *KMT2A*, за исключением t(9;11) ($n = 10$) и СК ($n = 56$). Анализ общей выживаемости (ОВ), безрецидивной выживаемости (БРВ) и кумулятивной частоты рецидивов (ЧР) проведен на общей когорте больных и с отдельными ХН. Однофакторный и многофакторный анализ (метод регрессии Кокса) выполнены с использованием статистических пакетов Statistica 7.0, программы «R», статистически значимыми считались выявленные различия при значении $p < 0,05$.

Результаты. По нашим данным, ОВ у больных ОМЛ зависела от ХН. Аллогенная ТГСК была наиболее успешной у больных с 5q-, *KMT2A* транслокациями и моносомией 7, где ОВ составляла 66, 59 и 56% соответственно. В то же время ОВ у больных со СК, 7q- и вовлечением в перестройки локуса 3q26 была ниже ($p = 0,01$), не превышая уровни в 33, 25 и 25% соответственно. БРВ различалась у пациентов с отдельными ХН ($p = 0,04$). Наивысшая БРВ отмечена в группе больных с 5q- и *KMT2A* транслокациями (66 и 52% соответственно), а самая низкая — у пациентов с перестройками 3q26, СК, моносомией 7 и 7q- (0, 18, 23 и 37% соответственно). Кроме того, БРВ отличалась между группами больных со СК+ и СК- (18 vs 41%, $p = 0,008$), а также с МК+ и МК- (17 vs 30%, $p = 0,04$). Многофакторный анализ показал, что СК ($p = 0,045$) у больных ОМЛ является независимым предиктором БРВ. Анализ кумулятивной ЧР у трансплантированных в ремиссии больных ($n = 42$), подтвердил, что она была выше как у пациентов со СК (55 vs 14%, $p = 0,03$), так и с МК (75 vs 31%, $p = 0,013$).

Заключение. Анализ результатов аллогенной ТГСК с выделением цитогенетических групп позволил выявить дополнительные предикторы выживаемости больных ОМЛ, что имеет важное и клиническое, и теоретическое значение.

Структура генофонда коренных малочисленных народов Дагестана по маркерам Y-хромосомы

Глазунова Е.О., Харьков В.Н., Раджабов М.О., Степанов В.А.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской генетики», 634050, г.Томск, Набережная р. Ушайки, д. 10
Glazunova.evgeniya@gmail.com

Республика Дагестан — уникальный регион с точки зрения этнического и культурного разнообразия проживающих на её

территории народов. Языки народов Дагестана весьма высоко дифференцированы, что является свидетельством постоянной лингвистической эволюции в регионе. Кроме этого, непрерывно шёл процесс изоляции, действие которой усиливалось большим числом эндогамных браков внутри поселений. Мы исследовали структуру генофонда коренного населения Дагестана принадлежащего к трём различным группам нахско-дагестанской языковой семьи с помощью 65 диаллельных и 36 STR маркёров Y-хромосомы. Материал составили образцы ДНК неродственных между собой мужчин из различных локальных популяций представляющих лезгинскую языковую группу (агулы ($N = 97$), рутульцы ($N = 74$), цахуры ($N = 93$) и арчинцы ($N = 49$)), лидийскую языковую группу (бежтинцы ($N = 86$), гунзибцы ($N = 49$), лидийцы (цезы) ($N = 128$) и гинухцы ($N = 31$), андийскую языковую группу (каратинцы ($N = 56$), багулалы ($N = 77$), ахвахцы ($N = 34$) и чамалалы ($N = 95$)). Наиболее частой гаплогруппой во всех популяциях является гаплогруппа J1, типичная для народов Дагестана, и составляет более 70% от общей выборки. Кроме этого присутствуют гаплогруппы J2, G2a, G2a3, R1a1, R1b1a2, Q1b1a, L3. Большинство пар сравниваемых выборок демонстрируют статистически значимые различия между разными лингвистическими группами и отсутствие различий внутри групп. Генетическая дифференциация (Fst по AMOVA) внутри лезгинской группы составляет 3,92 по частотам гаплогрупп. Значения Fst внутри цезской и андийской групп крайне низки (1,62 в обеих группах). Лезгинская группа популяций демонстрирует наиболее высокое разнообразие по гаплогруппам ($H = 0,706$ у цахуров). В популяциях лидийской и андийской лингвистических групп генетическое разнообразие экстремально низкое ($H = 0,2—0,3$), за счёт преобладания гаплогруппы J1. Установлено, что коренные популяции горных районов Южного Дагестана характеризуются значительно более низким уровнем генетического разнообразия по гаплогруппам Y-хромосомы, по сравнению с другими северокавказскими популяциями. При этом внутри гаплогруппы J1 наблюдается огромное разнообразие гаплотипов, что говорит о значительной древности J1 на территории Дагестана. В различных популяциях наблюдаются сильные эффекты основателя по разным гаплогруппам.

Перспективы биобанкирования в репродуктивной генетике

Глотов А.С.^{1,2}, Баранов В.С.^{1,2}

¹ ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия
e-mail: anglotov@mail.ru

² ФГНБУ «НИИАГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия

После триумфальной расшифровки генома человека дальнейшее развитие подходов к анализу индивидуальных биологических особенностей и факторов риска требует развития таких направлений, как индивидуальная и популяционная геномика, транскриптомика, и протеомика. Совокупность этих подходов позволяет перейти к генетической паспортизации и персонализированной медицине. Критическим элементом для такого исследования является наличие большой выборки индивидуальных проб документированного происхождения, доступных для молекулярно-генетического и биохимического анализа высокой разрешающей способности. Базу для этого создают национальные биобанки. Подобные биобанки созданы в разных странах и консорциумах стран, таких, как Великобритания, Австрия, Канада, Нидерланды, Финляндия, Эстония. Необходимость создания аналогичного биобанка (в перспективе, сети биобанков) в России назрела давно, но на настоящий момент существуют только различные специализированные банки (ДНК, РНК, стволовых клеток и др.), которые зачастую они представлены разрозненным и однократно собранным биоматериалом, не всегда в полной мере документированным и не имеющим реальной

медицинской и научной значимости, без перспектив его практического использования в будущем. Создание Биобанка для решения задач репродуктивной генетики является ключевой точкой роста в этой области медицины. При сотрудничестве СПбГУ и НИИАГиР им. Д.О. Отта нами планируется систематизировать анкетную и медицинскую информацию о биообразцах, осуществлять длительное хранение и исследование образцов крови, тканей плаценты, клеток, ДНК, РНК на эпидемиологическом, геномном и протеомном уровнях.

Работа поддержана грантом РНФ №14-50-00069 и РЦ «Биобанк» СПбГУ.

Анализ микроРНК у спортсменов при выполнении велоэргометрического теста

**Глотов О.С.^{1,2}, Полякова И.В.^{1,3}, Данилова М.М.²,
Вашукова Е.С.¹, Глотов А.С.^{1,2}, Пакин В.С.¹,
Намозова С.Ш.², Шадрин Л.В.², Дудкин П.Ю.²,
Асеев М.В.^{1,2}, Сарана А.М.³,
Щербак С.Г.³, Баранов В.С.^{1,2}**

¹ ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д.3; olglokov@mail.ru

² СПбГУ, Санкт-Петербург, Университетская набережная 7/9

³ СПб ГБУЗ «Городская больница №40»,

Санкт-Петербург, г.Сестрорецк, ул. Борисова, д. 9

Проведена стресс-эхокардиограмма и электрокардиограмма, исследованы различные биохимические показатели, а также спектр микроРНК в образцах периферической крови студентов-спортсменов до и после физической нагрузки — велоэргометрического теста. Количественную и качественную оценку выделенной микроРНК проводили на приборе «2200 TapeStation Instrument» («Agilent technologies», США) и приборе «Qubit» («Invitrogen», США). Для оценки качества библиотеки на приборе «2200 TapeStation Instrument» использовали чипы «High Sensitivity R6K ScreenTape», реактивы «High Sensitivity R6K Reagents» («Agilent technologies», США) и предлагающиеся к прибору программное обеспечение. Концентрацию микроРНК также измеряли с помощью прибора «Qubit» («Invitrogen», США), используя набор реагентов «QubitTM RNA Assay Kits» («Invitrogen», США) согласно протоколу фирмы производителя. Секвенирование проводили, используя набор реагентов «Ion PGMTM Sequencing 300 Kit» («Life technologies», США) и микрочип «Ion 314TM Chip» («Life technologies», США). Запуск прибора, его последующую «чистку» и эксплуатацию осуществляли согласно руководству к эксплуатации «Ion Personal Genome Machine® System» и соответствующим инструкциям: «Ion PGMTM Sequencing 300 Kit», «Torrent Suite 3.4.1» («Life technologies», США).

С помощью ресурса для анализа данных NGS секвенирования микроРНК — omiRas было установлено изменение экспрессии для hsa-mir-185 (до и после нагрузки), регулирующей активность генов *PPARG* и *VEGFA*, продукты которых контролируют физическую работоспособность. Проводится верификация полученных результатов с помощью метода ПЦР в реальном времени. Предполагается, что результаты работы могут быть использованы для оценки уровня здоровья и физического потенциала спортсменов.

Генетика психических заболеваний: множество генов — множество эффектов

**Голимбет В.Е., Алфимова М.В., Бархатова А.Н.,
Дмитриев Д.А., Колесина Н.Ю., Крикова Е.А.**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр психического здоровья», Москва, Каширское ш., 34, golimbet@mail.ru

Стратегии, используемые на современном этапе для поиска генетических вариантов, ассоциированных с распространёнными заболеваниями, в том числе психическими, могут быть в самом общем виде подразделены на две группы. В первую группу входит поиск прямых эффектов, т.е. факта установления ассоциации между полиморфным локусом и заболеванием. Этот подход реализуется в рамках широкогеномного сканирования с помощью биочипов, результатом чего является обнаружение распространённых (SNP) или редких (CNVs) генетических вариантов. Вторую группу составляют подходы, в задачу которых входит более «тонкое» изучение эффектов генетических вариантов. Это исследование совокупностей генов, формирующих тот или иной биохимический путь, генотип-средовые взаимодействия, модифицирующие и медиаторные эффекты генов. Гены-модификаторы играют важную роль в фенотипических проявлениях такого интенсивно изучаемого в молекулярно-генетическом аспекте заболевания как шизофрения. Их исследование может пролить свет на проблему клинического многообразия шизофрении, которое, судя по недавно опубликованным данным, определяется комбинациями генетических вариантов («генетической архитектуры»). В докладе будут обсуждены последние данные по многоцентровому изучению шизофрении в рамках консорциума по психиатрической генетике (Psychiatric Genomics Consortium (PGC)), продемонстрирован, на примере гена нейротрофического мозгового фактора (BDNF), модулирующий эффект генотипа Val66Met на связь между когнитивными и эмоциональными проявлениями шизофрении. Также будут приведены результаты исследования генов, участвующих в ключевых звеньях критического для патогенеза шизофрении кинуренинового пути. Интерес к его изучению обусловлен тем, что в результате альтернативного метаболизма триптофана по этому пути образуются токсические для головного мозга продукты, которые могут влиять на состояние основных нейротрансмиссивных систем (дофаминовой, серотониновой, глутаматной).

Анализ распространённости мутации 35delG гена GJB2 у пациентов с несиндромальной тугоухостью в Краснодарском крае

Голихина Т.А., Зинченко Л.В., Матусевич С.А.

ГБУЗ «НИИ — Краевая клиническая больница №1 имени профессора С.В. Очаповского»,
e-mail: kubanmgk@mail.ru

Кубанская межрегиональная медико-генетическая консультация, 350086, г.Краснодар, ул.1 Мая, 167

Проведён молекулярно-генетический анализ 163 пациентам (97 ж, 66 м) с несиндромальной тугоухостью в возрасте от 0 до 50 лет. У 97 обследуемых (59,5%) наследственность по тугоухости не отягощена, в 66 случаях (40,5%) отмечался семейный характер заболевания.

Материалом для исследования служили образцы ДНК, выделенные из венозной крови. Поиск мутации 35delG в гене коннексина *Cx26* проводился с использованием набора реагентов «Cx26», разработанного в ФГБНУ МГНЦ (Москва).

Проведённое исследование позволило определить мутацию 35delG в гене *GJB2* у 76 пациентов (46,6%): у 57 чел. (75%) в гомозиготном состоянии, у 19 (25%) — в гетерозиготном. У 87 чел. (53,4%) мутация не выявлена.

Из 97 sporadических случаев тугоухости делеция 35delG в гене коннексина 26 обнаружена в 29 (29,9%): в гомозиготном состоянии у 21 пациента (21,6%), в гетерозиготном — у 8 (8,2%). При обследовании 66 пациентов с отягощённым семейным анамнезом, данная мутация определена у 47 (71,2%) больных: в гомозиготном состоянии в 36 случаях (54,5%), в гетерозиготном — в 11 (16,7%).

Из 57 больных (35,0%), у которых мутация в гене *GJB2* обнаружена в гомозиготном состоянии, у 21 (36,8%) наследствен-

ность неотягощена, у 15 (26,3%) оба родителя также страдали тугоухостью, в 21 случае (36,8%) тугоухость отмечалась у близких родственников (один из родителей, сибсы, дети).

Из 19 пациентов (11,7%) с гетерозиготным носительством делеции 35delG у 8 чел. (42,1%) это был единственный случай заболевания в семье, у 3 (15,8%) тугоухость отмечалась у сибсов, у 1 чел. (5,3%) заболевание выявлено у двух детей (у супруга обследуемого также страдал тугоухостью), в 7 (36,8%) случаях тугоухость отмечалась у дальних родственников.

Синдромы HELLP и Рейе как маркёры наследственных дефектов обмена

Голубева С.В.¹, Лазарчик И.В.¹, Миронова Е.Ю.¹, Степанов М.Е.², Мисюкевич А.А.³, Бринкевич В.Н.⁴

¹ Минская областная детская клиническая больница

² Минское областное патологоанатомическое бюро

³ Витебская областная детская клиническая больница

⁴ Витебское областное патологоанатомическое бюро
3733343@tut.by

HELLP-синдром — редкое осложнение в акушерской практике, возникающее в третьем триместре беременности и проявляющееся гемолизом эритроцитов, нарушением функции печени, тромбоцитопенией. Описаны случаи развития HELLP-синдрома при влиянии на организм беременной плода, имеющего дефект метаболизма жирных кислот. Синдром Рейе — острая энцефалопатия с отёком головного мозга и жировой инфильтрацией печени, часто провоцируемая вирусной инфекцией и приёмом салицилатов, этиологически связанная с некоторыми группами наследственных болезней обмена.

HELLP- и Рейе синдромы последовательно развились у членов одной семьи. Генетический дефект был установлен после смерти третьего ребёнка. Родители клинически здоровы. Первая беременность закончилась преждевременными родами в 36 недель, интранатальной гибелью плода, ДВС-синдромом с маточным кровотечением и удалением матки, нарушением функции печени с гепатомегалией и повышением трансаминаз (HELLP-синдром). Семья продолжила реализацию деторождения с применением вспомогательных репродуктивных технологий и суррогатного материнства. Беременность закончилась в 30–31 неделю рождением двойни одного пола. Дети выжили как недоношенные. Критических состояний в периоде новорождённости не было, развивались с умеренной моторной задержкой. В 7 мес. один из двойни заболел острой респираторной инфекцией (на фоне приёма ибупрофена), осложнившейся симптомами общей интоксикации, угнетением центральной нервной системы, ДВС-синдромом, желтухой, гепатомегалией с повышением трансаминаз. Летальный исход наступил через 10 дней от начала заболевания. Диагноз: синдром Рейе. Второй из двойни ребёнок заболел острой респираторной инфекцией через 10 дней после смерти первого с аналогичным клиническим течением. Летальный исход наступил внезапно на 5-й день от момента заболевания. Диагноз: синдром Рейе. Генетический диагноз: Недостаточность длиннопочечной 3-гидроксиацил-CoA-дегидрогеназы (LCHAD) из группы нарушений бета-окисления жирных кислот.

Синдромы HELLP и Рейе являются маркёрами наследственных нарушений обмена, позволяющими верифицировать генетический диагноз и определить прогноз и объём пренатальной диагностики для семьи.

Анализ изменений митохондриального генома в атеросклеротической бляшке

Голубенко М.В.^{1,2,3}, Бабушкина Н.П.¹, Буйкин С.В.¹, Назаренко М.С.^{1,3}, Глушкова М.Е.³, Фролов А.В.², Барбараш О.Л.², Пузырев В.П.^{1,3}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт медицинской генетики», Томск, 634050

e-mail: maria.golubenko@medgenetics.ru

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, 650002

³ Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, 634050

Роль соматических изменений митохондриальной ДНК в развитии многофакторных заболеваний является предметом активных исследований. Наличие мутаций мтДНК в поражённой ткани может быть как маркёром окислительного стресса и высокой мутационной активности, так и фактором, способствующим прогрессированию болезни. В последнее время появляются данные о том, что повреждения мтДНК вовлечены в процессы атерогенеза (Weakley S.M. et al. 2010). Считается, что мутации, вызванные окислительным стрессом, приводят к разобщению дыхательной цепи митохондрий и повышению уровня активных форм кислорода, ведущему к дальнейшим повреждениям мтДНК (Yu E. et al. 2012). Другая гипотеза предполагает, что эффект повреждений мтДНК выражается в нарушении синтеза АТФ и последующем апоптозе клеток (Davidson S.M. and Yellon D.M., 2013). Особенности митохондриальной генетики определяют существование соматических мутаций в форме гетероплазмы, при которой только часть молекул мтДНК несет мутацию. Проблема точной оценки уровня гетероплазмы может быть решена с помощью технологий массового параллельного секвенирования. Целью исследования является сравнительный анализ состояния митохондриального генома в ткани атеросклеротической бляшки сонных артерий и лейкоцитах периферической крови. Сбор материала осуществлён на базе НИИ КПССЗ у пациентов с ишемической болезнью сердца и хроническими нарушениями мозгового кровообращения, подвергшихся оперативному вмешательству на каротидных артериях. Секвенирование полного митохондриального генома проведено на платформе Illumina (MiSeq), которая обеспечивает покрытие всей мтДНК с кратностью, достаточной для надёжной оценки уровня гетероплазмы. Предварительный анализ контрольного региона мтДНК показал наличие гетероплазмичных позиций как в клетках крови, так и в клетках бляшки.

Исследование поддержано грантом РФ №14-15-00305.

Анализ генетической подверженности заболеваниям с фибротическими изменениями различных органов

Гончарова И.А.^{1,2}, Тарасенко Н.В.¹, Белобородова Е.В.³, Марков А.В.¹

¹ ФГБНУ НИИ медицинской генетики, Томск, Россия

² ФГБНУ НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, Кемерово, Россия

³ Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия

Для выявления особенностей генетической подверженности заболеваниям, сопровождающимся фиброзом различных органов были сформированы группы больных: хроническим вирусным гепатитом С (ХВГС) (n = 200), поскольку при HCV инфекции наблюдается фибротическое поражение печени, и сахарным диабетом первого типа (СД1) (n = 123). с нефропатией при которой происходит формирование гломерулярного и интерстициального фиброза в почках Контрольная группа — популяционная выборка жителей г.Томска (n = 300). Генотипирование 58 полиморфных вариантов (SNP), выполнено с помощью масс-спектрометрии на приборе Sequenom MassARRAY®. Показано, что с ХВГС ассоциированы гены,

участвующие в формировании экстрацеллюлярного матрикса и метаболизме коллагена: ADAM-подобного дисцелина 1 — *ADAMDEC1* за счёт более высокой частоты генотипа «СС» (rs10087305) и «АА» (rs3765124) у больных (OR = 6,9(1,84—31,04); $p = 0,001$ и OR = 1,8 (1,16—2,77); $p = 0,008$ соответственно); металлопротеазы 3 — *MMP3* (rs679620) за счёт повышения частоты генотипа «АА» у больных (OR = 2,32(1,35—4,02); $p = 0,001$); интегрин бета 5 — *ITGB5* (rs1007856) за счёт повышения частоты генотипа «ТТ» у больных (OR = 1,74(1,10—2,73); $p = 0,016$); ген репарации ДНК — *LIG1* (rs20579) за счёт повышения частоты генотипа «СС» в группе больных (OR = 1,95(1,20—3,17); $p = 0,006$); и ген, ответственный за функционирование эндотелия — *KIAA1462* (rs3739998) за счёт повышения частоты генотипа «СС» у больных (OR = 1,9 (1,18—3,17); $p = 0,007$). С нефропатией при СД1 ассоциированы гены, участвующие в формировании экстрацеллюлярного матрикса и метаболизме коллагена: *ADAMDEC1* (rs3765124) («АА» OR = 2,14(1,29—3,54); $p = 0,004$); *ITGA4* (rs1143674) («GG» OR = 1,91(1,02—3,55); $p = 0,041$); *MMP3* (rs679620) («АА» OR = 2,80(1,43—5,50); $p = 0,002$); *ITGB5* (rs1007856) («ТТ» OR = 2,15(1,68—3,62); $p = 0,003$); *COL1A1* (rs2075555) («А» OR = 1,57(1,02—2,41); $p = 0,037$); ген иммунного ответа CD247 (rs6668182) («GA+AA» OR = 2,10(1,01—4,44); $p = 0,049$) и ген репарации ДНК — *PARP4* (rs4986819) («СС» OR = 2,12(1,09—4,17); $p = 0,026$). Общими для ХВГС и диабетической нефропатии являются гены *ADAMDEC1* (rs3765124), *MMP3* (rs679620), *ITGB5* (rs1007856), причём ассоциации носят однонаправленный характер.

Мутационная и эпигенетическая изменчивость при раке мочевого пузыря

Гончарова Р.И.¹, Смаль М.П.¹, Ролевич А.И.², Поляков С.Л.², Красный С.А.²

¹ Институт генетики и цитологии Национальной Академии наук Беларуси, г.Минск, Республика Беларусь
R.Goncharova@igc.bas-net.by

² Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова, г.Минск, Республика Беларусь

Рак мочевого пузыря (РМП) разделяется на два основных подтипа: немышечно-инвазивный (НМИ РМП) и мышечно-инвазивный (МИ РМП), которые развиваются по альтернативным молекулярно-генетическим путям патогенеза, определяемым мутациями ключевых генов *FGFR3* и *TP53* соответственно. Полногеномное секвенирование выявило большое количество соматических мутаций в геноме различных опухолей, включая РМП (Alexandrov et al., 2013), и поставило на повестку дня сложную проблему выделения мутаций ключевых генов (key drivers), ответственных за патогенез различных онкологических заболеваний. Геномы опухолей, в том числе и РМП, несут большое количество aberrантно метилированных промоторов генов. Согласно гипотезе Feinberg et al. (2006) aberrантное метилирование промоторов генов инициирует опухолеобразование. В связи с этим необходим комплексный анализ мутационной и эпигенетической изменчивости для более точного выяснения молекулярных путей патогенеза РМП. На проспективной когорте 243 белорусских пациентов, страдающих НМИ РМП и МИ РМП, нами изучены мутационная изменчивость генов *FGFR3* и *TP53* и статус метилирования промотора гена *RUNX3*, а также определены частоты генотипов опухолей по этим генам. Установлен противоположный характер распределения мутаций генов *FGFR3* и *TP53* относительно степени распространения и дифференцировки опухоли. Метилирование гена *RUNX3* (62% опухолей) было ассоциировано с высокой стадией и низкой степенью дифференцировки карцином. Обнаружены обратные корреляции между мутациями генов *FGFR3* и *TP53*, а также *FGFR3* и статусом метилирования

RUNX3 и отсутствие ассоциаций между мутационной изменчивостью гена *TP53* и эпигенетической изменчивостью *RUNX3*. Отметим, что подгруппа карцином без мутаций *FGFR3* и *TP53* представляет собой существенную часть (35%) всех опухолей. По-видимому, они могут развиваться по другому молекулярно-генетическому пути патогенеза. Характерно, что значительная доля таких карцином имеет метилированный ген *RUNX3*. Данные позволяют рассматривать *RUNX3* в качестве ключевого гена при РМП и свидетельствуют о разном вкладе статуса метилирования *RUNX3* в патогенез НМИ РМП и МИ РМП.

Частота аллельных вариантов гена *iceA* штаммов *Helicobacter pylori*, циркулирующих в Восточной Сибири (Республика Саха)

Готовцев Н.Н.¹, Барашков Н.А.², Саввинова К.Е.³, Пак М.В.⁴, Пшенникова В.Г.¹, Рафаилов А.М.³, Леханова С.Н.⁵, Федорова С.А.^{1,2}

¹ Научно-исследовательская лаборатория молекулярной биологии, Институт естественных наук, ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова» (г.Якутск)
E-mail: Donzcrew@mail.ru

² ФГБНУ «Якутский научный центр Комплексных медицинских проблем» (г.Якутск)

³ Кафедра биологии, Институт естественных наук, ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова» (г.Якутск)

⁴ Эндоскопическое отделение, ГБУ РС (Я) Республиканская больница №1 — Национальный Центр медицины (г.Якутск)

⁵ Кафедра нормальной и патологической анатомии, оперативной хирургии с топографической анатомией и судебной медицины ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова» (г.Якутск)

Helicobacter pylori (*Hp*) — это грамтрицательная спиралевидная бактерия, ассоциированная с гастродуоденальными заболеваниями и обладающая специфическими факторами вирулентности и патогенности (CagA, VacA, BabA и IceA) [Atherton et al., 1995]. Аллели гена *iceA* являются наиболее ассоциированными с язвенной болезнью и хроническим гастритом (ХГ). Недавно было проведено исследование по метаанализу клинических исходов у носителей различных аллелей гена *iceA*, в котором было исследовано более 5000 чел., показавшее, что у большинства пациентов аллель *iceA1* ассоциирован с язвенной болезнью [Shiota et al., 2012]. В Якутии подобные исследования ранее не проводились. В связи с этим, целью данного исследования является изучение частоты аллелей гена *iceA* штаммов *Hp*, циркулирующих в Восточной Сибири (Республика Саха).

Исследуемую выборку составили образцы ДНК *Hp* выделенные из биоптатов 42 пациентов якутов (13—17 лет) с подтверждённым гистологическими и цитологическими методами исследований диагнозом ХГ.

Среди исследованных 42 клинических изолятов, аллель *iceA1* был идентифицирован у 33 пациентов, а *iceA2* выявлен у 9 пациентов. Частота аллеля *iceA1* в Якутии составила — 78,5% (доверительный интервал, ДИ = 0,64—0,88) что достоверно выше средних значений регистрируемых в Европе (29,5%, ДИ = 0,34—0,44) и Америке (46,5%, ДИ = 0,31—0,41), но не отличается от средних значений в Азии (58,9%, ДИ = 0,58—0,64). Частота аллеля *iceA2* *Hp* в Якутии составила 21,4% (ДИ = 0,11—0,36), что достоверно ниже средних значений выявленных в Америке (55,4%, ДИ = 0,51—0,61) и Европе (38,8%, ДИ = 0,38—0,48), но статистически не отличается от частот в Африке (26,3%, ДИ = 0,21—0,32) и Азии (26,3%, ДИ = 0,23—0,28).

Результаты исследований частоты аллельных вариантов гена *iceA* штаммов *Hp* циркулирующих в Восточной Сибири демонстрируют значительные отличия от частот в Европе и Аме-

рике ($p < 0,05$), но приближаются к значениям частот в популяциях Азии ($p > 0,05$).

Работа выполнена при поддержке проекта Министерства образования и науки РФ ГК №6.656.2014/К

Молекулярно-цитогенетическая характеристика комплексных кариотипов и сложных хромосомных перестроек при МДС и ОМЛ

Гребенюк Л.А., Алимова Г.А.,
Шишигина Л.А., Обухова Т.Н.

ФГБУ Гематологический Научный Центр МЗ РФ,
Москва, 125167, Новый Зыковский д.4
lyuba.grebenyuk@yandex.ru

Сложные хромосомные нарушения (с участием трёх и более хромосомных партнеров) и комплексные изменения кариотипа у больных МДС и ОМЛ являются факторами неблагоприятного прогноза. Возможности стандартного цитогенетического исследования (СЦИ) ограничены низкой разрешающей способностью этого метода. Флюоресцентная гибридизация *in situ* на интерфазных ядрах (iFISH) и многоцветная флюоресцентная гибридизация *in situ* (mFISH), позволяют идентифицировать сложные хромосомные нарушения, маркерные хромосомы, субмикроскопические делеции и транслокации с делециями локусов известных и потенциальных генов, участвующих в патогенезе заболевания. Целью настоящего исследования являлся детальный молекулярно-цитогенетический анализ комплексных кариотипов и сложных хромосомных нарушений у больных МДС и ОМЛ методами iFISH и mFISH. Проведено исследование клеток костного мозга 16 больных (МДС — 12 и ОМЛ — 4), 8 мужчин и 8 женщин в возрасте от 22 до 89 лет (средний возраст — 53 года). Выполнена iFISH с ДНК-зондами: LSIEGR1/D5S23, D5S721 DCPS в 10 случаях, TP53/CEP 17 FISHPK — 7 случаев, D7S522/CEP 7 FISHPK — 6, CEP 8 SO DNAPK, ATM/CEP 11 FISHPK, LSM1LLDCBAP, D20S108 FISHPK, 1p36 Microdeletion Region Probe — LSIp58 (1p36) (SO)/TelVysion 1p (SG)/LSI 1q25 (SA) (Abbott Laboratories, U.S.A.) в одном случае каждый. У 13 пациентов выявлены комплексные изменения кариотипа, у трёх больных хромосомные перестройки, неидентифицируемые при СЦИ. Всем 16 пациентам проведено СЦИ и mFISH. У 14 пациентов (87%) были выявлены аномалии хромосом 5, 7 и/или 17. Делеции 5q и 7q определены в одном случае каждая, остальные аномалии этих хромосом были представлены транслокациями. Истинной моносомии хромосом 5 и 7 выявлено не было. Обнаруженные при СЦИ моносомии представлены транслокациями с вовлечением этих хромосом и, за исключением одного случая, сопровождались делециями локусов 5q31 и 7q31. У девяти из 16 пациентов (56%) в кариотипе при СЦИ определялись маркерные хромосомы, которые при mFISH были идентифицированы как несбалансированные транслокации. При этом точки разрыва определялись в хромосомах X, 1, 2, 3, 5, 7, 10, 11, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 и 22. Использование mFISH и iFISH позволило идентифицировать все количественные и структурные аномалии, нераспознаваемые при СЦИ, уточнить точки разрыва хромосом и определить происхождение маркерных хромосом.

Трудности диагностики врожденной дисфункции коры надпочечников у детей

Григорьян В.В., Матулович С.А., Шашель В.А.

ГБУЗ «НИИ — Краевая клиническая больница №1 им. профессора С.В.Очаповского», Кубанская межрегиональная медико-генетическая консультация, 350086, г.Краснодар, ул.1 Мая, 167, e-mail: kibanmgk@mail.ru

Неонатальный скрининг позволяет вовремя диагностировать случаи врожденной дисфункции коры надпочечников

(ВДКН), предотвратить гибель ребёнка от сольтеряющего криза и избежать серьёзных диагностических ошибок в выборе половой принадлежности при выраженной вирилизации наружных гениталий.

Представляем клинический случай. Ребёнок родился в 2014 г. в семье, где уже был ребёнок с ВДКН. От проведения пренатальной диагностики супруги отказались. При рождении в роддоме был установлен мужской паспортный пол. На 6-е сутки ребёнок выписан домой с диагнозом: Левосторонний анорхизм, правосторонний крипторхизм. Гипоспадия, мошоночная форма. На 8-е сутки жизни ребёнка вызвали в медико-генетическую консультацию в связи с подозрением на ВДКН по результатам неонатального скрининга (уровень 17-ОНР 1540 нмоль/л при норме менее 25 нмоль/л). При осмотре в МГК была отмечена гипотрофия ребёнка, снижение тургора кожи, неправильное строение наружных гениталий: гипертрофия клитора, большие половые губы сращены по типу мошонки, уrogenитальный синус открывался у основания клитора. Экспресс диагностика: половой хроматин 8% (женский). После осмотра ребёнок был экстренно госпитализирован в отделение младшего возраста Детской краевой клинической больницы (ДККБ). В ДККБ по результатам обследования выявлена гиперкалиемия и гипонатриемия, высокий уровень 17-ОНР. При УЗ-исследовании обнаружили матку и яичники, гиперплазию надпочечников. В КММГК цитогенетическое исследование: кариотип 46XX. В Эндокринологическом научном центре (г.Москва) проведено молекулярно-генетическое исследование, обнаружена часто встречаемая мутация в гене CYP-21: E3del.

Особенности спектра мутаций при фенилкетонурии в Карачаево-Черкесии

Гундорова П., Степанова А.А., Зинченко Р.А., Поляков А.В.

ФГБНУ «МГНЦ», Москва 115478 ул. Москворечье д.1;
p_gundorova@inbox.ru

Фенилкетонурия (ФКУ) — наиболее частая врожденная ферментопатия среди европейцев, связанная с нарушением метаболизма фенилаланина. Накопления его токсических продуктов приводит к тяжёлому поражению ЦНС, клинически проявляющемуся в виде нарушения умственного развития. Мутации в гене *PAH*, кодирующем фермент фенилаланингидроксилазу, приводят к классической форме ФКУ. Частота встречаемости ФКУ в России составляет 1 : 8000—10 000 новорождённых с частотой носительства 1:50. Частота ФКУ, по данным неонатального скрининга в Карачаево-Черкесской Республике, составляет 1:3000. Численность населения Республики 470 тыс. чел. В Республике проживает более 50 национальностей, однако преобладают представители пяти этнических групп: карачаевцы (194 тыс.), русские (150 тыс.), черкесы (56 тыс.), абазинцы (24 тыс.) и ногайцы (16 тыс.). Нами обобщены и проанализированы результаты комплексного популяционного и медико-генетического исследования 10 районов и двух городов Карачаево-Черкесской Республики, в результате чего было отобрано 36 неродственных больных ФКУ. Пробанды из выборки были исследованы на наличие мутаций в гене *PAH* по следующему алгоритму. Первоначально был проведён поиск 8 частых мутаций методом MLPA-анализа. Данная система имеет эффективность до 81% для российских больных. Были обнаружены мутации на 5 из 72 исследуемых хромосом. Самая частая для европейцев мутация гена *PAH* R408W встретилась 3 раза (4,2% обследованных хромосом), мутации R158Q и IVS10-11G>A по 1 разу (по 1,4%). Далее была использована MLPA-система диагностики десяти повторяющихся мутаций. У 22 больных была обнаружена мутация R261X в гомозиготном состоянии и у 6 — в компаунд-гетерозиготном. Таким образом, мутация R261X встретилась на 50 хромосомах (69,4%). Мутации Y414C и L48S встретились по 1 разу (1,4%). Для обнаруже-

ния второй мутации, у части больных было проведено секвенирование кодирующей последовательности гена *PAH*. Мутация R413P была обнаружена на 6 хромосомах (8,3%), P211T на 3 хромосомах (4,2%), F331S на 2 хромосомах (2,8%), мутации P211L, S349P, с.664_665delGA, с.1089delG встретились по 1 разу (1,4%). Пробанды, у которых были выявлены частые для европейцев мутации, являются русскими. Для коренного населения Республики — карачаевцев, черкесов, абазин — частыми являются мутации R261X, R413P, P211T, F331S, которые встретились более одного раза. Широкое распространение мутации R261X можно объяснить высокой инбредностью Карачаево-Черкесской популяции и, вероятно, эффектом основателя.

Клиническое описание болезни накопления в якутской популяции

Гуринова Е.Е.^{1,2}, Максимова Н.Р.^{2,3}, Сухомясова А.Л.^{1,2}, Ноговицына А.Н.^{1,2}, Николаева И.А.^{1,2}, Иванова Р.Н.^{1,2}, Алексеева С.П.¹

¹ ГБУ РС(Я) «Республиканская больница №1 — Национальный центр медицины», Якутск, Сергеляхское ш., 4, elgur2005@yandex.ru

² ГБУ Якутский научный центр комплексных медицинских проблем ФАНО, Якутск

³ Северо-Восточный Федеральный университет им. М.К. Аммосова, Якутск

В медико-генетической консультации Республики Саха (Якутия) с 2006 г. консультирование прошли 12 детей (8 девочек и 4 мальчика) из неродственных якутских семей с клиническими проявлениями болезни накопления с аутосомно-рецессивным наследованием. Болезнь характеризовалась быстрым прогрессированием и летальным исходом в младенческом возрасте: восемь детей умерли в возрасте до полутора лет (6 девочек и 2 мальчика), одна девочка — в 2 года. Два мальчика 2 и 3 лет и девочка грудного возраста живы, в тяжёлом состоянии.

С рождения или после 1 месяца жизни дети имеют плотные на ощупь щёки, носзды, шумное дыхание, тугоподвижность пальцев рук. С 4—5-месячного возраста появляется гурлер-подобный фенотип: грубые черты лица, признаки множественного дизостоза, бронхообструктивный, гепатолиенальный синдромы, поражение клапанов сердца, преимущественно митрального и трикуспидального, признаки легочной гипертензии; сердечно-легочная недостаточность, которая является причиной смерти.

У всех детей наблюдается отставание в психомоторном развитии, в более поздние сроки развивается снижение слуха, признаки атрофии зрительных нервов.

В генеалогическом анамнезе родственный брак отрицается. В одной семье болезнь зарегистрирована у двоюродных сибсов, в двух семьях двое детей со сходным заболеванием умерли в младенческом возрасте.

За эти годы по данным энзимодиагностики и культуры фибробластов исключены все типы мукополисахаридозов (I, II, III, IV, VI, VII), ганглиозидозы — GM1, GM2, болезнь Гоше, муколипидозы, болезнь Нимана—Пика типы C/B/A, наследственный амилоидоз, синдром Жакена, маннозидоз, болезнь Помпе, болезнь Фабри, болезнь Краббе, сиалидоз, фукозидоз.

В настоящее время в сотрудничестве с медицинским университетом г.Осака (Япония) проводится полногеномное экзомное секвенирование с целью идентификации мутантного гена.

Эпидемиологическое исследование болезни Шарко—Мари—Тута в Республике Саха (Якутия)

Гурьева П.И., Николаева Т.Я., Максимова Н.Р.

ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», 677027, Республика Саха (Якутия), г.Якутск,

ул. Белинского 58
GurievaPI@yandex.ru

Цель работы: изучить распространённость и клинико-генетическую характеристику болезни Шарко—Мари—Тута (ШМТ) в Республике Саха (Якутия).

Основными источниками информации о семье с больными ШМТ послужили Республиканский генетический регистр наследственной и врождённой патологии медико-генетической консультации ГБУ РС (Я) РБ№1-НЦМ, данные годовых отчётов неврологов Республики о количестве больных с ШМТ, сведения, полученные в ходе экспедиционных обследований населения улусов.

В исследование включены данные о 113 больных ШМТ из 79 семей, из которых 87 больных якутской этнической группы из 59 семей. Проведено комплексное обследование пробандов и членов их семей, включающее неврологический осмотр, клинико-генеалогический анализ, электромиографию, молекулярно-генетическое исследование методом фрагментного анализа на генетическом анализаторе ABI Prism 3130XL («Applied Biosystems») с использованием динуклеотидных STR-маркёров (D17S2218, D17S2223, D17S229) для поиска дупликаций в гене *PMP22*.

Распространённость болезни ШМТ на территории Республики Саха (Якутия) составляет 11,8 на 100 000 населения с накоплением в Абыйском (204,5 на 100 000 населения), Нюрбинском (47,6 на 100 000 населения) и Усть-Алданском (40,7 на 100 000 населения) улусах. Среди якутской этнической группы распространённость составила 18,4 на 100 000 населения, что в 3,2 раза выше, чем в среднем по Российской Федерации (5,6 на 100 000 населения). Доля ШМТ 1А типа по данным генетического скрининга составила 38,1% от всех случаев болезни ШМТ. Медиана возраста больных во всей группе на момент обследования составила 29,0 лет [20,0;47,5]. Медиана возраста дебюта заболевания 11,0 лет [7,0;15,0].

Среди якутской этнической группы чаще встречался аутосомно-рецессивный тип наследования болезни ШМТ (54,1% от общего количества якутских семей), тогда как в русских семьях преобладал аутосомно-доминантный тип наследования (75,0%). Средний возраст манифестации у больных с аутосомно-рецессивным типом наследования составил $11,0 \pm 4,77$ года. Отмечено сочетание аутосомно-рецессивной ШМТ с субатрофией зрительных нервов в 10 случаях, с сенсоневральной тугоухостью в одном случае, с малыми аномалиями сердца в шести случаях.

Роль генетических факторов при аллергопатологии

Гусарук Л.Р.¹, Голубцов В.В.², Лобанов К.И.², Водяникова Л.В.¹

¹ Кубанский государственный медицинский университет
gusaruk@yandex.ru

² ГБУЗ Краевая клиническая больница №2, Краснодар, Россия

При современной оценке патогенеза аллергопатологий учитывается сочетание действия фактора внешней среды с генотипическими особенностями больного. Гены ферментов биотрансформации ксенобиотиков определяют характер взаимодействия организма с окружающей средой и могут способствовать развитию аллергических болезней, усугублять течение аллергического воспаления и индуцировать развитие тяжёлых обострений (Полоников А.В., 2006).

Целью данного исследования было выявление характера ассоциации заболеваемости аллергическим ринитом (АР) с полиморфизмом G590A (rs1799930) гена ариламин N-ацетилтрансферазы-2 (*NAT2*). Ген локализован в регионе 8p22 и кодирует аминокислотную последовательность цитозольного фермента, участвующего во второй фазе детоксикации ксенобиотиков посредством ацетилирования.

Частоты встречаемости полиморфизмов гена рассматривали в популяции европеоидов Краснодарского края среди больных аллергическим ринитом и здоровых доноров. ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови методом адсорбции (ДНК-Сорб, Интерлабсервис). Генотипирование проводили путём полимеразной цепной реакции с соответствующими праймерами и зондами в режиме реального времени в амплификаторе Rotor-geenQ (Qiagen).

Характер распределения частот генотипов представлен в таблице.

Генотип	Больные АР (n = 204)		Здоровые (n = 108)	
	Количество (чел.)	Частота генотипа	Количество (чел.)	Частота генотипа
AA	114	0,56	46	0,43
AG	69	0,33	51	0,47
GG	21	0,10	11	0,10

В группе больных АР преобладающим является генотип AA: его частота в 1,7 раза больше, чем AG, и в 5,6 раза больше, чем GG. Рассматривая данный генотип, как фактор риска в двух совокупностях (больные и здоровые), получили значение $\chi^2 = 4,992$, $p < 0,05$. Это позволяет рассматривать его в качестве молекулярно-генетического маркера при данной патологии. Очевидно, что у носителей «медленных ацетиляторов», к каковым относится изучаемый аллель, скорость трансформации ксенобиотиков снижается, что может быть одним из генетических факторов, предрасполагающих к аллергопатологии.

Несколько случаев делеции длинного плеча хромосомы 18 (del (18)(q22))

Гусева Л.В., Герасименко Н.Ю., Дрозд О.В., Иванова А.С., Лапутин И.А.

БУЗОО «ОКБ», 644111, г. Омск, ул. Березовая, 3;
lorg55@mail.ru@mail.ru

Делеция длинного плеча хромосомы 18 впервые описана в 1964 г. Жаном де Груши. Частота встречаемости 1 : 40 000.

В Омске с 2000 г. по 2014 г. выявлено 6 случаев del (18)(q22). Из них 4 пациента мужского пола, 2 пациента женского пола. Популяционная частота составила в Омской области 1 : 60 000. При анализе анамнеза было выявлено: 50 % детей (3 пациента) от недоношенной беременности, у всех этих матерей роды были в сроке 37 недель, новорождённые родились со ЗВУР. Беременности в 50% протекали на фоне угрозы прерывания. В 25% случаев возраст родителей старше 35 лет. У 25 % семей больной ребёнок — первый, в 50% семей имеются здоровые дети. У одной семейной пары отмечается в анамнезе бесплодие. Проведено кариотипирование двух семей: кариотип родителей нормальный.

При рождении масса тела в пределах нормы в 2 случаях, ЗВУР — 3, нет данных — 1 случай. Из лицевых аномалий встречаются: монголоидный разрез глаз, эпикант, уплощенная спинка носа, гипертелоризм, макроцефальный череп, низкопосаженные диспластичные ушные раковины. У всех пациентов встречается миотонический синдром. У 75% задержка моторного и речевого развития. У одного пациента — грубая задержка речевого развития. Один пациент смог окончить общеобразовательную школу, занятия проводились на домашнем обучении. Из ВПР в данной группе встретились: пупочная грыжа, гипоспадия, арахноидальная киста. Врождённые пороки сердца имеются у 3 чел.: дефект межпредсердной перегородки в 2 случаях, у одного пациента (16%) сочетание дефекта межжелудочковой перегородки и стеноза легочной артерии.

Особенности эпидемиологии и фенотипические проявления характерные для наших пациентов не противоречат данным, описанным в литературе.

Финансирование деятельности медико-генетической службы на субфедеральном уровне (на примере диагностического (медико-генетического) центра г. Санкт-Петербурга)

Гусева С.В., Романенко Т.А.

Комитет по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга, ул. Малая Садовая, д.1, GSV@kzdrav.gov.spb.ru
СПб ГКУЗ «Диагностический центр (медико-генетический)», ул. Тобольская, д. 5

Финансовое обеспечение мероприятий, направленных на проведение пренатальной (дородовой) диагностики нарушений развития ребёнка и неонатального скрининга на 5 наследственных и врождённых заболеваний осуществляется за счёт средств федерального бюджета и бюджетов субъектов Российской Федерации.

В Санкт-Петербурге обеспечение ряда диагностических мероприятий в рамках пренатальной диагностики и неонатального скрининга осуществляется на базе СПб ГКУЗ «Диагностический центр (медико-генетический)» (МГЦ). Учреждение в течение 45 лет ведет работу по диагностике, профилактике и лечению наследственных и врождённых заболеваний (НВЗ). По своему типу учреждение относится к лечебно-профилактическим медицинским организациям — диагностическим центрам, мощность центра составляет 300 посещений в смену. МГЦ проводит неонатальный скрининг на ФКУ, ВГ, АГС, ГАЛ и МВ. Врачи-генетики консультируют семьи (пациентов) по выявлению НВЗ и прогнозу потомства, ведут диспансерное наблюдение и лечение детей и взрослых с НВЗ. МГЦ осуществляет ультразвуковую и биохимический скрининги беременных женщин по выявлению патологий плода.

До 2015 г. финансовое обеспечение пренатальной и неонатальной диагностики осуществлялось за счёт двух источников финансирования:

- бюджетных ассигнований федерального бюджета Российской Федерации;
- бюджетов субъектов Российской Федерации.

В 2015 г. порядок финансового обеспечения данных мероприятий определяется с учётом постановления Правительства РФ от 28.11.2014 N 1273 «О Программе государственных гарантий бесплатного оказания гражданам медицинской помощи на 2015 год и на плановый период 2016 и 2017 годов». В 2015 г. весь комплекс мероприятий по пренатальной диагностике и неонатальному скринингу должен быть выполнен за счёт средств бюджетов субъектов Российской Федерации.

Генотоксический эффект метотрексата на примере *Drosophila melanogaster*

Давиденко К.А., Антосюк О.Н.

Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, ул. Мира, 19,
antosuk-olga@mail.ru

В ряде мировых исследований установлен генотоксический эффект, вызванный различными химическими препаратами на дрозофиле как модельном объекте [1, 2]. Наибольший интерес среди препаратов химического стресса представляют цитостатические препараты, активно используемые в медицинской практике в настоящее время. В исследовании использовался метотрексат (Methotrexate), который является ингибитором дигидрофолатредуктазы как у дрозофил, так и у человека. Нарушение метаболизма фолатов провоцирует нестабильность ДНК и, как следствие, происходят 1 и 2-цепочечные разрывы цепи

либо недостаточное метилирование ДНК, и в итоге происходит неправильная генная экспрессия[3]. Недостаточное метилирование определённых регионов генов-супрессоров опухолей в ряде случаев вызывает трансформацию клеток, что является основой для канцерогенеза.

Объектом исследования были выбраны 3 гетерогенные линии дикого типа *Drosophila melanogaster*. Для установления генотоксического эффекта метотрексата использовались как косвенные, так и прямые методы. При воздействии метотрексатом концентрацией 400 г/кг среды установлено понижение фертильности, увеличение летальности на разных этапах развития: эмбриональном, постэмбриональном. Выявлено наличие хемоморфозов типа «вырезка» на крыле. Длительная направленная селекция на повреждение в крыле в присутствии метотрексата позволила выявить линейные различия во всех трёх линиях. В линии «Биос-3» изменяются линейные параметры крыловой пластинки, характеризующие ширину крыла, в линии «Host» — характеризующие как длину, так и ширину крыла, а в линии «Белгород» — характеризующие длину верхней части крыла. Что касается двумерных параметров (площади ячеек крыловой пластинки), в линии Белгород изменению в ходе селекции подвергается только половина крыловой пластинки, в то время как в двух других линиях изменяются все ячейки крыла.

Таким образом, установлено наличие генотоксического эффекта метотрексата как на уровне генеративных, так и на уровне соматических клеток в трёх разных гетерогенных линиях *Drosophila melanogaster*.

Молекулярно-генетический анализ ассоциаций полиморфных вариантов генов серотонинергической системы с показателями тревожности

Давыдова Ю.Д., Садыкова Л.Р., Гумерова О.В.

Башкирский государственный педагогический университет им. М.Акумлы,
e-mail: xxtruexx@mail.ru
450000, г.Уфа, ул. Октябрьской революции, 3а; тел. (3472) 230290; факс (3472) 229034

Согласно современным научным представлениям, молекулярно-генетические маркеры генов серотонинергической системы вносят важный вклад в формирование психоэмоциональных характеристик человека, в том числе таких, как тревожность. В качестве генов-кандидатов, экспрессия которых может влиять на уровень тревожности, были исследованы полиморфные варианты генов, продукты которых отвечают за биосинтез серотонина (*A218C* гена триптофангидроксилазы-1 *TPH1* и *G-703T* гена триптофангидроксилазы-2 *TPH2*), перенос (*5-HTTLPR* гена переносчика серотонина *SLC6A4*) и рецепцию (*G68C* гена рецептора серотонина *5HTR2C*).

У 162 неродственных индивидов в возрасте 17–22 лет определены уровни ситуативной (СТ) и личностной (ЛТ) тревожности по методике Ч.Д. Спилберга и Ю.Л. Ханина (Барканова, 2009). В соответствии с показателями тревожности испытуемые разделены на три группы: с нормальным уровнем тревожности (31–44 балла), высоким (выше 45 баллов) и низким (ниже 30 баллов). Анализ генетических полиморфизмов осуществлен методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) и последующим ПДРФ-анализом.

Показаны статистически значимые различия в распределении частот аллелей гена *TPH1* между группами с низкими и высокими показателями ситуативной тревожности ($\chi^2 = 5,1499$, $p = 0,0237$), вследствие повышения частоты высокоактивного аллеля *A (57,5% в группе с высокими показателями, 25,00% в группе с низкими показателями) и снижения частоты аллеля *C (42,50% против 75,00% соответственно) в группе с высокими показателями. Также выявлено достоверное различие в распределе-

нии генотипов по гену *TPH2* между группами с низкими и средними показателями ситуативной тревожности ($\chi^2 = 6,996$, $p = 0,0090$), вследствие повышения частоты генотипа *G/*G (66,67%) в группах с низкими показателями по сравнению с группой со средним уровнем тревожности (21,74%).

Полученные данные свидетельствуют о том, что аллель *A гена *TPH1*, обеспечивающий повышение экспрессии гена, ассоциирован с более высоким уровнем ситуативной тревожности, а наличие генотипа *G/*G гена *TPH2* характеризуется снижением показателей по данной шкале.

Клинические и молекулярно-генетические характеристики прионной болезни Gerstmann—Straussler—Scheinker у двух больных из Российской Федерации

Дадали Е.Л., Степанова А.А., Щагина О.А., Поляков А.В.
ФГБНУ «МГНЦ», Москва, Россия

Болезнь Gerstmann—Straussler—Scheinker — редкое ауто-сомно-доминантное заболевание, частота которого не превышает 1 на 10 млн чел. Нами представлено описание клинико-молекулярно-генетических характеристик двух больных из неродственных семей с сегрегацией заболевания в трёх поколениях. Выявление изменений нуклеотидной последовательности гена *PRNP* было проведено методом прямого автоматического секвенирования.

Первый больной мужчина в возрасте 35 лет обратился с жалобами на скованность мышц, изменение речи, поперхивание при еде и снижение памяти. Первые признаки заболевания появились в возрасте 34 лет и характеризовались дизартрией и ухудшением памяти на текущие события и речевыми персеверациями. На электроэнцефалограмме определялось умеренное нарушение биоэлектрической активности мозга в виде дисфункций дизцефальных структур, общемозговые изменения ирритативного характера на фоне диффузной дизритмии. При проведении MRT головного мозга участков изменения интенсивности сигнала не выявлено. Аналогичные симптомы отмечались у матери и брата пробанда, которые умерли в возрасте 37 и 38 лет соответственно. Спустя 3 года от возникновения первых симптомов заболевания. При ДНК анализе у пробанда обнаружена ранее описанная мутация с.350C>T (ALA117Val) в гене *PRNP*.

Вторая больная — женщина 43 лет, у которой первые симптомы возникли в возрасте 40 лет и характеризовались выраженными расстройствами координации. В неврологическом статусе доминировали симптомы статической и динамической мозжечковой атаксии в сочетании с пирамидной симптоматикой. Выраженных когнитивных расстройств отмечено не было, больная жаловалась лишь на снижение памяти на текущие события. При проведении ЭЭГ и МРТ головного мозга значимых изменений выявлено не было. Аналогичные симптомы наблюдались у матери и бабушки больной, которые скончались спустя соответственно 5 и 7 лет от начала заболевания. При проведении ДНК анализа у больной обнаружена описанная мутация Pro102Leu в гене *PRNP*.

Полученные нами результаты подтверждают высказанное рядом авторов мнение о том, что у больных с мутацией Ala117Val наблюдается так называемый «теленцефалический» тип болезни, в противоположность «атактическому» типу, наблюдаемому при мутации Pro102Leu.

Современная классификация и особенности клинических проявлений спинальных мышечных атрофий детского возраста

Дадали Е.Л., Шаркова И.В., Забненкова В.В.
ФГБНУ Медико-генетический научный центр РАМН;
genclinic@yandex.ru

Спинальные мышечные атрофии (СМА) — группа генетически гетерогенных заболеваний, характеризующихся прогрессирующей дегенерацией мотонейронов спинного мозга, что клинически проявляется мышечной слабостью, гипотонией и снижением или угасанием сухожильных рефлексов. СМА детского возраста — одна из наиболее распространённых групп наследственных болезней нервной системы, характеризующихся прогрессирующим течением, приводящим к ранней гибели больных. В зависимости от преимущественной топографии мышечного поражения в клинической классификации выделяют проксимальные и дистальные СМА детского возраста, а также изолированные и синдромальные формы заболевания. К настоящему времени описано 16 генетических вариантов СМА детского возраста, для 11 из которых идентифицированы гены и определены их белковые продукты, что дало основание приступить к созданию генетической классификации этой группы заболеваний, основанной на различиях в их этиологии. Однако изучение клинических проявлений известных генетических вариантов СМА позволило определить дифференциально-диагностические критерии, использование которых позволит с большой долей вероятности предполагать наличие определённого генетического варианта СМА у детей уже при неврологическом осмотре и определять алгоритм молекулярно-генетического обследования больного с целью оптимизации поиска этиологического фактора заболевания. В группе изолированных проксимальных СМА 85% случаев представлено СМА Верднига—Гоффмана, обусловленной мутациями в гене SMN1, продуктом которого является белок выживаемости мотонейронов спинного мозга, участвующий в формировании сплайсоосмы в мотонейронах спинного мозга. Значительно реже встречаются два других генетических варианта изолированных проксимальных, а также шесть вариантов дистальных СМА, манифестирующих в детском возрасте. Описано, также семь генетических вариантов синдромальных проксимальных СМА, при которых клинические и электромиографические признаки поражения мотонейронов спинного мозга сочетаются с понтocerebellарной гипоплазией, микроцефалией, миоклонус эпилепсией и врождёнными переломами.

Создание программного инструмента для автоматизированной интерпретации результатов фармакогенетического тестирования лекарственных средств

**Данилова Д.А., Васильев Ф.Ф.,
Каймонов В.С., Максимова Н.Р.**

МИП ООО «Генодиагностика», 677000, Республика Саха (Якутия), г.Якутск, ул. Кулаковского 46;
todorilovadiana@gmail.com

Достижения медицинской науки и внедрение огромного количества новых лекарственных средств не снижают актуальность проблем эффективной фармакотерапии. Одним из путей повышения эффективности и безопасности фармакотерапии является внедрение в клиническую практику технологий персонализированной медицины.

Целью данной работы является разработка и создание уникального программного инструмента, необходимого для предоставления специалистам научных и клинических лабораторий учреждений здравоохранения новых и эффективных средств проведения автоматизированной обработки и интерпретации результатов фармакогенетического тестирования 21 лекарственного средства 11 фармакологических групп (статины, бета-адреноблокаторы, антикоагулянты непрямого действия, антиагреганты, антидепрессанты, ингибиторы протонного насоса, ненаркотические анальгетики, противоопухолевые средства, иммунодепрессанты, противогрибковые средства, антиаритмические препараты).

Аналоговые приложения иностранного производства представлены веб-сервисами в виде онлайн-калькуляторов расчёта полученных результатов генотипирования. Работа на данных веб-сайтах достаточно трудоемка в виду необходимости поиска определённого сервиса под каждую фармакологическую группу лекарственных средств. Кроме того, данные сервисы зачастую бывают недоступны пользователям из РФ. Таким образом, разработка специального программного инструмента для автоматизированной обработки и интерпретации результатов фармакогенетического тестирования приобретает особую актуальность.

Применение разрабатываемого нами программного инструмента позволит популяризировать принципы персонализированной медицины в клинической практике учреждений здравоохранения, и тем самым, повысит эффективность терапии и снизит частоту нежелательных побочных реакций.

Работа выполнена при поддержке гранта ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014—2020 годы» (Соглашение о предоставлении субсидии №14.576.21.0070 от 6 ноября 2014 г. с Министерством образования и науки РФ).

Особенности проведения метода ДНК-комет в сперматозоидах

**Даугель-Дауге Н.О., Анисина Е.А.,
Жанатаев А.К., Дурнев А.Д.**

ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова»,
Россия, 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8.
E-mail: daugelsam@mail.ru

Метод ДНК-комет верифицирован и введен в ряд официальных руководств, в том числе отечественных, в качестве экспресс-теста по оценке генотоксической и/или потенциальной канцерогенной активности. На сегодня остается нерешённым вопрос о применимости метода для оценки ДНК-повреждений в сперматозоидах и ооцитах. Уникальность структурной организации обуславливает методические особенности проведения метода ДНК-комет в этих клетках. Анализ литературы свидетельствует о высокой вариативности получаемых результатов, связанной в первую очередь с различиями в используемых протоколах. Таким образом, накопление массива экспериментальных данных для выработки согласованного протокола проведения метода является актуальной методической задачей.

В рамках поиска решения указанной задачи нами проводятся исследования по оптимизации метода ДНК-комет на сперматозоидах лабораторных мышей. Особенностью организации хроматина сперматозоидов является его сверхкомпактизация вследствие замещения гистоновых белков протаминами. Это требует введение в стандартный протокол метода ДНК-комет процедуры деконденсации хроматина. Нами отработаны варианты деконденсации с использованием различных диссоциирующих/восстанавливающих агентов и их комбинаций (дифенилтриэтил, гепарин, протеиназа К, додецилсульфат натрия итд.). Установлено, что оптимальным является использование комбинации дифенилтриэтила (10 мМ/30 мин) и дейдосалицилата лития (4 мМ/90 мин), позволяющей добиться полной деконденсации и хроматина. Отработаны варианты проведения этапа электрофореза. Время щелочной денатурации и электрофореза по 10 мин определены как оптимальные, поскольку более длительная экспозиция ведёт к диффузии «хвостов» ДНК-комет, а короткая — снижению чувствительности детекции. Установлено, что с возрастанием pH электрофорезного буфера (12.1–13.4) увеличивается значение оцениваемых показателей, что очевидно связано различной степенью реализации щелочно-лабильных сайтов, высокий уровень которых характерен для ДНК сперматозоидов.

В настоящее время проводятся исследования по оценке адекватности разработанных методических подходов для детекции генотоксических эффектов модельных генотоксикантов в сперматозоидах.

Морфологически обособленные опухолевые популяции рака молочной железы в понимании механизмов эволюции и прогрессии заболевания

Денисов Е.В.^{1,2}, Скрябин Н.А.³, Геращенко Т.С.^{1,2},
Паутова Д.Н.², Завьялова М.В.^{1,2},
Чердынцева Н.В.^{1,2}, Перельмутер В.М.¹

¹ Томский НИИ онкологии
dnsv.ev@gmail.com

² Томский государственный университет

³ НИИ медицинской генетики, Томск, Российская Федерация

Внутриопухолевая гетерогенность, с одной стороны, затрудняет понимание биологии рака молочной железы (РМЖ), с другой стороны, может служить ресурсом для идентификации новых механизмов опухолевого развития. В этом плане большой интерес представляют морфологически обособленные опухолевые популяции (структуры) РМЖ, молекулярно-генетическая природа связи которых с риском метастазирования и эффективностью химиотерапии заболевания на данный момент не известна. В соответствии с этим целью настоящего исследования была сравнительная полногеномная и полнотранскриптомная характеристика разных морфологических структур РМЖ. Тубулярные, альвеолярные, трабекулярные, солидные структуры и дискретные группы опухолевых клеток были выделены из срезов свежемороженных образцов опухолевой ткани ($n = 3$) с помощью лазерной микродиссекции (PALM, Carl Zeiss). Образцы ДНК и РНК, полученные из микродиссектированного материала, использовались для постановки микроматричной сравнительной геномной гибридизации (SurePrint G3 ISCA v2 CGH 8X60K, Agilent) и экспрессионного анализа (SurePrint G3 v2 8x60k, Agilent) соответственно. Было показано, что различные типы морфологических структур опухолей молочной железы хотя и цитогенетически отличны друг от друга, но не несут специфических хромосомных нарушений. Для одинаковых типов морфологических структур характерна цитогенетическая гетерогенность. Формирование различных морфологических структур либо носит хаотичный характер, либо происходит локально в пределах каждого участка опухоли молочной железы. Дискретные группы опухолевых клеток демонстрировали экспрессионную обособленность, альвеолярные структуры были ближе к трабекулярным, а солидные к тубулярным. Высокая экспрессия двух кластеров генов — *SNORA16B*, *ENG*, *CLL2* и др. и *NIPAL2*, *ANKRD54*, *FCN2* и др. была идентифицирована в дискретных группах опухолевых клеток и альвеолярных структурах соответственно. Было сделано заключение, что различные морфологические структуры опухолей молочной железы не несут специфических хромосомных нарушений, но характеризуются наличием специфических экспрессионных маркеров, что, вероятно, объясняет их дифференциальный вклад в прогрессию и эффективность лечения РМЖ.

Биоинформационный анализ геномных маркеров-кандидатов диагностической панели атеросклероза

Деревянчук Е.Г., Бутенко Е.В., Потемкин Д.С.,
Романов Д.Е., Шкурят Т.П.

Академия биологии и биотехнологии Южного федерального университета, г. Ростов-на-Дону,
e-mail: biolab2008@yandex.ru

Несмотря на существенные достижения в области медицины и биологии, заболеваемость и смертность от атеросклеротических поражений остаются на довольно высоком уровне, а спектр адекватных целей антиатеросклеротической терапии остается весьма ограниченным. Одной из причин этого неблагоприятного дисбаланса является недостаточное количество верифицированных биомаркеров ССЗ. В связи с чем, главной целью нашего исследования является создание панели новых достоверных геномных индикаторов, позволяющей ещё в ранний, досимптоматический период обнаружить признаки возможного будущего заболевания.

Для подготовки панели нами был проведён биоинформационный анализ потенциальных генов-кандидатов, прямо или косвенно принимающих участие в патогенезе атеросклероза. В перечень анализируемых генов вошли гены метаболизма липидов (*PCSK9*, *AMPD1*, *APOB*, *APOC3*, *APOE*, *LIPC*, *LPA*, *LPL*, *MTTP*, *SCARB1*), гены матриксных металлопротеиназ (*MMP1*, *MMP3*, *MMP9*), гены фолатного цикла (*MTHFR*, *MTRR*), гены окислительного стресса (*PON1*, *NOS3*) и некоторые другие (*PPARG*, *ENPP1*). Поиск мотивов осуществлялся с помощью биоинформационного пакета MEME Suite.

В окрестностях исследуемых генов обнаружено 670 мотивов, гомологичных пре-ми-РНК, и 4300 мотивов, гомологичных зрелым ми-РНК. При этом средняя плотность распределения ми-РНК по участкам генома варьировала от 0 до 2,2 пре-ми-РНК на 1000 п.н. и от 0 до 6,9 зрелых ми-РНК на 1000 п.н. Внутри исследуемых генов всего выявлено 433 мотива, гомологичных пре-ми-РНК и 2780 мотивов, гомологичных зрелым ми-РНК. Средняя плотность распределения мотивов составила 0,4 на 1000 п.н. для пре-ми-РНК и 3,3 на 1000 п.н. для зрелых ми-РНК. Наиболее часто встречались мотивы, гомологичные *mmu-mir-466i*, *hsa-mir-5096*, *hsa-mir-1273g*, *ppu-mir-1268* и *hsa-mir-619*. По результатам обработки данных MirTarBase нами было установлено, что мультигенным регулятором для исследованных групп генов является *hsa-miR-138-5p*.

Полученные результаты могут быть использованы для разработки диагностической панели атеросклероза.

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки РФ, грант №6.703.2014/K на оборудовании ЦКП «Высокие технологии ЮФУ», грант №RFMEFI59414X0002.

Количественная оценка кольцевых структур TREC и KREC у детей с нарушениями функции иммунной системы на первом году жизни

Дерябина С.С.¹, Тузанкина И.А.¹,
Власова Е.В.¹, Шершнев В.Н.²

¹ Институт иммунологии и физиологии УрО РАН,
г. Екатеринбург, ул. Первомайская, д.106
svetlana.343@yandex.ru

² Институт промышленной экологии УрО РАН

Как известно, тяжёлая комбинированная иммунная недостаточность (ТКИН) — группа генетически детерминированных синдромов, характеризующихся низким количеством или полным отсутствием Т-лимфоцитов, снижением функции В-лимфоцитов, а в некоторых случаях и отсутствием функции натуральных киллеров. Эти нарушения приводят к повышенной чувствительности к тяжёлым инфекциям и летальному исходу в раннем детском возрасте. На сегодняшний день единственным способом оценки пролиферации лимфоцитов является определение кольцевых структур ДНК Т-клеточного (TREC) и В-клеточного (KREC) рецепторов методом ПЦР в реальном времени. Цель настоящего исследования заключалась в коли-

чественной оценке TREC и KREC в лимфоцитах условно-здоровых детей (I группа) и детей с нарушениями функции иммунной системы (развитие лимфопении, тяжёлых инфекций, наличие пороков развития), выявленными на первом году жизни (II группа). В процессе работы апробирована отечественная мультиплексная тест-система. Всего обследовано 113 человек (54 условно-здоровых ребёнка и 59 детей с патологией иммунной системы). Материалом для исследования служили образцы ДНК, выделенной из сухих пятен крови новорождённых. Продолжительность хранения образцов сухой крови составила от нескольких месяцев до 4 лет. Расчёт количества TREC и KREC проводили в копиях на мкл цельной крови и с учётом внутреннего контроля, в пересчёте на количество лейкоцитов. В результате работы выявлены статистически значимые различия по количеству TREC ($p = 0,00001$) и KREC ($p = 0,00004$) между группами сравнения. 45,7% детей с нарушениями функций иммунной системы (27/59) имели отклонения от нормативных значений TREC и/или KREC (значений, полученных в группе условно-здоровых детей). Из них полное отсутствие TREC/KREC продемонстрировали 2 ребёнка, низкие показатели TREC + KREC — 18 детей, низкие показатели TREC — 6 детей, низкие показатели KREC — 1 ребёнок. В четырёх случаях выявлен молекулярно-генетический дефект, свидетельствующий о наличии ПИД — синдрома del22q11.2 (Di George syndrome). В этой же группе оказались два ребёнка, рождённые от ВИЧ-инфицированных матерей. Таким образом, проведённое исследование позволяет сделать вывод о том, что количественная оценка кольцевых ДНК T- и B-клеточного рецепторов является достаточно информативным и прогностически значимым методом для выявления скрытых первичных иммунодефицитных состояний у детей, который может быть рекомендован для широкого применения.

Врождённые морфогенетические варианты как индикаторы загрязнения окружающей среды

Джамбетова П.М., Хасаева А.З.-Х., Талаева А.М.

Чеченский государственный университет,
г.Грозный, ул. Шерипова, 32
E-mail: petimat-lg@rambler.ru

Среди биомаркёров эффекта терратогенных и мутагенных воздействий факторов окружающей среды выделяют показатели врождённых морфогенетических вариантов (ВМГВ), формирование которых связано с процессами пренатального индивидуального развития при взаимодействии таких факторов, как наследственность и природная среда. Показана высокая чувствительность данного показателя к воздействиям химических поллютантов окружающей среды на здоровье населения.

Данный биомаркёр использован для изучения тяжёлой экологической ситуации в Чеченской Республике (ЧР) и участвовавшими случаями рождения детей с различными аномалиями развития, проживающих на загрязнённых нефтепродуктами территориях не связанных с производственной сферой. Анализ полученных результатов выявил достоверное повышение среднего числа ВМГВ на одного ребёнка и доли детей с высоким уровнем ВМГВ в загрязнённых населённых пунктах при сравнении с условно чистым районом ($p = 4,5 \times 10^{-4}$). Установлено, что повышение частоты ВМГВ значимо сопряжено с уровнем загрязнения окружающей среды продуктами сжигания и переработки нефти ($p = 0,0005$).

Изучение сопряжённости частоты ВМГВ с 22 полиморфными вариантами генов детоксикации ксенобиотиков, репарации и окислительной защиты в изученных группах детей показало значимый вклад в формирование ВМГВ наряду с потенциальными мутагенами окружающей среды минорного аллеля гена окислительной защиты *GCLC**129T ($p = 0,014$).

Проведённое исследование показало, что показатели ВМГВ отражают воздействие мутагенных факторов среды про-

живания на генетическое здоровье детей и могут использоваться для первичного мониторинга в эколого-генетических исследованиях.

Полиморфизм -21A>T в гене каталазы ассоциирован с развитием миомы матки

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

Курский государственный медицинский университет,
305041, г.Курск, ул. К. Маркса, д.3., кафедра биологии, медицинской генетики и экологии
E-mail: succubus2013@yandex.ru

Миома матки (ММ) — доброкачественная опухоль, которая превалирует в структуре гинекологической патологии и диагностируется примерно у 25% женщин. Известно, что окислительный стресс играет важную роль в патогенезе миомы матки. Гиперпродукция активных форм кислорода (АФК) приводит к активации ангиогенеза, избыточному синтезу экстрацеллюлярного матрикса, цитокинов и факторов роста, нарушению регуляции клеточной пролиферации. Каталаза (CAT) — мощный антиоксидантный фермент — катализирует реакции химического расщепления токсичных гидроперекисей до молекулярного кислорода и воды. Исследований взаимосвязи полиморфизма -21A>T с развитием ММ до настоящего времени не проводилось. Целью данной работы стало изучение ассоциации функционально значимого полиморфизма -21A>T (rs7943316) гена *CAT* с развитием ММ. Материалом для исследования послужила 454 женщины: 281 больная ММ, находившиеся на стационарном лечении в отделении оперативной гинекологии Курского областного перинатального центра и отделения оперативной гинекологии Курского городского клинического родильного дома в период с 2010 по 2014 гг., и 173 относительно здоровых женщины, сопоставимых по возрасту и не имеющих клинических и УЗИ-признаков ММ. Генотипирование полиморфизма -21A>T гена *CAT* проводили методом ПЦР-ПДРФ. Распределение частот аллелей и генотипов в обеих группах соответствовало равновесию Харди—Вайнберга. Носительство вариантного аллеля Т обладало протективным эффектом относительно риска развития заболевания: частота аллеля Т составила 0,605 в группе ММ и 0,679 в контрольной группе ($OR = 0,72$, 95% $CI = 0,55-0,96$, $P = 0,02$). Частота гомозигот -21AA также была выше у больных (17,8%) по сравнению с контролем (10,4%); $OR = 1,86$, 95% $CI = 1,05-3,32$, $P = 0,03$. Значимых различий в частоте гетерозигот -21AT и вариантных гомозигот -21TT обнаружено не было.

Клинические случаи кольцевой хромосомы 22

Донников М.Ю., Михна И.Н., Зубайдулина С.Р., Новикова М.В., Гильнич Н.А., Колбасин Л.Н., Кунцевич Н.В., Иваненко В.В.

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

Клинические случаи кольцевой 22 хромосомы встречаются весьма редко. По данным A.Schinzal, описано 60 случаев с вагинальным фенотипом синдрома микроделеции 22q13 (Phelan McDermid), поэтому каждый выявленный случай представляет научно-практический интерес. За пятилетний период проведения цитогенетических исследований нам удалось выявить два подобных случая.

Первый случай: пробанд — девочка 3 лет. Состояние при рождении средней степени тяжести, вес 2650 г, длина 49 см, окружность головки 33 см, оценка по шкале Апгар 7—8 баллов. Наблюдается задержка речевого развития с 1 года. В 2012 г. была прооперирована по поводу открытого аортального клапана и

кавернозной гемангиомы нижней трети левого плеча. Фенотипически: лицо эльфа, длинный фильтр, гипотелоризм, шея короткая, нанизм, сколиоз, плоскостопие. Выявлен кариотип: 46,XX,r(22)(p13;q13) *de novo*. При исследовании методом MLPA на частые хромосомные микроделеции (набор «SALSA MLPA P245-B1 Microdeletion-1 probemix», MRC-Holland), обнаружена микроделеция региона 22q13.

Второй случай: пробанд — мальчик 7 лет. При рождении состояние удовлетворительное, вес 3200 г, рост 52 см, окружность головки 34 см, оценка по шкале Апгар 8—9 баллов. В возрасте 5 лет наблюдается задержка роста (100 см при весе 15 кг). Особенности фенотипа: микроцефальная форма черепа, треугольное лицо, диспластичные ушные раковины, клинодактилия, длинный фильтр, плоскостопие, поперечная ладонная складка слева. Наблюдается задержка психо-речевого развития, в 5 лет фразовой речи нет (говорит 4 слова), фебрильные судороги, левосторонний крипторхизм (оперированный). Выявлен кариотип 46,XY,r(22)(p13;q13). Родители не кариотипированы.

Для подобных пациентов рекомендовано проведение детального молекулярно-генетического исследования методом хромосомного микроматричного анализа (aCGH) с целью выявления границ разрыва в длинном плече хромосомы 22 и протяжённости интерстициальных делеций, вовлекающих регион гена *SHANK3*, ответственного за развитие нервной системы. Это позволяет оценить степень фенотипических проявлений и прогнозировать риск развития аутизма, задержки психо-речевого развития.

Влияние аномалий числа копий генов и хромосомных регионов на прогноз у пациентов с нейробластомой

Друй А.Е.^{1,2,3}, Цаур Г.А.^{1,2}, Шориков Е.В.^{1,2},
Тупоногов С.Н.¹, Попов А.М.^{1,2},
Савельев Л.И.^{1,2,3}, Фечина Л.Г.^{1,2}

¹ Областная детская клиническая больница №1, Екатеринбург, Россия

² Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург, Россия

³ Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия
620149, Россия, Екатеринбург, ул. С.Дерябиной, 32
Dr-Drui@yandex.ru

Делеции 1p, 11q, амплификация гена *MYCN* наряду с клиническими факторами риска являются неблагоприятными прогностическими признаками у пациентов с нейробластомой, в то же время значение многих других aberrаций числа копий хромосомных регионов остаётся неясным.

139 образцов первичной опухоли пациентов с нейробластомой были исследованы методом множественной лигазно-зависимой амплификации зондов (MLPA) на наличие аномалий числа копий материала хромосом 1, 2, 3, 4, 7, 9, 11, 12, 14, 17. Прогностическое значение выявленных aberrаций оценивалось на основании показателей пятилетней общей (ОВ) и безсобытийной (БСВ) выживаемости. Медиана времени наблюдения составила 36 мес. (диапазон 1—190 мес.).

Амплификация гена *MYCN* была обнаружена у 22 пациентов (15,8%), при этом в 13 случаях ген *MYCN* был амплифицирован с другими генами, картированными в регионе 2p23 (*NAG*, *DDX1* и/или *ALK*), а в 9 случаях — самостоятельно. Наличие амплификации *MYCN* резко ухудшало прогноз заболевания: БСВ $0,22 \pm 0,09$, ОВ $0,29 \pm 0,10$; при отсутствии амплификации $0,65 \pm 0,06$ и $0,73 \pm 0,06$, соответственно, $p < 0,0001$. Наличие коамплификации генов *MYCN*, *NAG*, *DDX1* и *ALK* не имело прогностического значения по сравнению с амплификацией только гена *MYCN*. Метод MLPA позволил выявить увеличение генетического материала региона 2p23-24, не достига-

ющего порога амплификации. Данная aberrация приводила к снижению выживаемости в прогностически-благоприятной группе пациентов младше 18 месяцев, БСВ и ОВ $0,56 \pm 0,20$, при отсутствии aberrации $0,82 \pm 0,06$ и $0,92 \pm 0,04$ соответственно, $p = 0,0481$ и $p = 0,0239$.

В 32 случаях (23,0%) была обнаружена делеция 1p, которая отрицательно влияла на выживаемость пациентов (БСВ $0,38 \pm 0,09$ и $0,63 \pm 0,05$, $p = 0,0101$; ОВ $0,49 \pm 0,09$ и $0,71 \pm 0,05$, $p = 0,0077$). Увеличение материала 17q, выявленное у 60 больных (43,2%) также приводило к снижению показателей выживаемости (БСВ $0,51 \pm 0,07$ и $0,63 \pm 0,06$, $p < 0,0405$; ОВ $0,51 \pm 0,08$ и $0,74 \pm 0,06$, $p = 0,0212$). В большинстве случаев количественные аномалии хромосом при нейробластоме являются благоприятными факторами прогноза, ассоциированными с кариотипом, близким к триплоидному. Однако трисомия 7 (12 пациентов 8,6%) приводила к снижению показателей выживаемости пациентов: БСВ $0,41 \pm 0,16$ и $0,59 \pm 0,05$, $p < 0,0315$; ОВ $0,46 \pm 0,18$ и $0,65 \pm 0,05$, $p = 0,0452$. Делеция 1p, увеличение генетического материала 17q и трисомия 7 сохраняют свое прогностическое значение в группе пациентов без амплификации гена *MYCN*. У девяти больных (6,5%) была обнаружена делеция 9p. Её наличие приводило к снижению общей выживаемости пациентов: $0,38 \pm 0,17$ и $0,65 \pm 0,05$, $p = 0,0320$. Увеличение количества копий гена *MDM2*, картированного в локусе 12q15, связано со снижением БСВ в группах больных с прогностически-благоприятной нейробластомой: младше 1 года ($0,55 \pm 0,13$ и $0,86 \pm 0,06$, $p = 0,0111$), с локализованной опухолью и стадией IVS ($0,61 \pm 0,11$ и $0,79 \pm 0,06$, $p = 0,0565$) и с нейробластомой стадии IVS ($0,20 \pm 0,18$ и $0,86 \pm 0,13$, $p = 0,0433$).

При создании регрессионной модели Кокса для расчета ОВ пациентов, включающей такие факторы риска, как стадию IV, возраст на момент постановки диагноза, амплификацию гена *MYCN*, делеции 1p, 9p и увеличение материала 17q, IV стадию нейробластомы ($p = 0,042$), амплификация гена *MYCN* ($p = 0,049$) и делеция 9p ($p = 0,041$) продемонстрировали независимое прогностическое значение.

Теория и практика генотоксикологических исследований

Дурнев А.Д., Жанатаев А.К.

ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», Россия, 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8;
e-mail: addurnev@mail.ru

Основными задачами генетической токсикологии являются:

1. Исследование механизмов и закономерностей генотоксических воздействий в соматических, эмбриональных и зародышевых клетках;
2. Разработка методов и батарей тестов для выявления генотоксикантов;
3. Скрининг и мониторинг потенциальных генотоксикантов;
4. Исследование возможностей модификации генотоксических воздействий;
5. Оценка риска генотоксических воздействий для здоровья человека.

В генотоксикологии имеется ряд нерешённых проблем и вопросов.

В области, определённой в первой задаче, это недостаточное понимание механизмов повреждающего генотоксического действия, значимости эпигенетических событий, особенностей действия генотоксикантов в эмбриональных и зародышевых клетках, патогенетической роли предмутационных повреждений ДНК.

В области второй задачи, на фоне достигнутого согласия о приоритете тестирования *in vivo*, актуализируются вопросы адекватности методов, используемых для оценки геномных мутаций и оценки влияния генотоксикантов на зародышевые клет-

ки. Представлены разработки института в области оценки генотоксичности во «вторичных тканях» и зародышевых клетках. Обоснована необходимость оценки целостности митохондриального генома и эпигенетических воздействий.

По третьему пункту дан анализ распространенности генотоксикантов и определены принципы, определяющие первоочередность и объем тестирования ксенобиотиков. Рассмотрены методические особенности генотоксической оценки нанопроизводных, стволовых клеток, биотехнологических препаратов, препаратов для генной терапии и ряда других.

По четвертому пункту представлены данные, обобщающие двадцатилетний личный опыт исследований антимутагенной и комутагенной активности пищевых и лекарственных соединений. Описаны методические особенности этих исследований, определены перспективы использования антимутагенов.

При анализе оценки риска генотоксических воздействий для здоровья человека (пункт 5) рассмотрены современные представления о структуре генетического груза и этиопатогенетической роли генотоксикантов. Приведены собственные экспериментальные данные о связи между повреждениями ДНК в эмбриональных клетках и нарушениями пре- и постнатального развития животных.

Исследование роли генетической составляющей в этиологии и патогенезе гипогонадотропного гипогонадизма

Енева Н.Г.¹, Локтионова А.С.^{2,3},
Хусниярова К.А.¹, Иловойская И.А.³, Древалъ А.В.³,
Нефедова Л.Н.¹, Ким А.И.¹

Москва

Гипогонадотропный гипогонадизм (ГГ) относится к числу редких заболеваний, характеризующихся задержкой либо отсутствием полового созревания вследствие нарушения секреции гонадолиберина (ГнРГ). На сегодняшний день этиология ГГ остаётся в большинстве случаев не ясна, пациентам ставят диагноз идиопатической формы заболевания. Врожденные формы ГГ подразделяются на сопряженные с аносмией/гипосмией (синдром Каллмана) и с нормальным обонянием (нормосмический идиопатический ГГ, нИГГ).

Этиология ИГГ гетерогенна. На данный момент известны несколько десятков генов, вовлеченных в процесс становления репродуктивной оси, патологические изменения которых могут привести к развитию синдрома ГГ. Тем не менее, более чем в 65% случаев этого синдрома генетическая причина остается невыясненной. В рамках исследования была составлена классификация генов-кандидатов на группы с указанием участия в формировании заболевания:

- 1) нейроразвивающие гены;
- 2) гены, действующие на функции нейронов ГнРГ.

Первая и вторая группа, соответственно, были представлены следующими генами: *WDR11*, *CHD7*, *FGFR1*, *PROK2/PROKR2*, *DUSP6* и *GNRH1/GNRHR*, *LEPR*. Круг генов был ограничен экспрессией в лейкоцитах крови.

Объектом исследования стали пациенты отделения терапевтической эндокринологии МОНИКИ с диагнозом «гипогонадотропный гипогонадизм». В исследуемую выборку вошли 12 чел. (2 мужчин, 10 женщин) в возрасте от 17–26 лет. Контрольная группа состояла из 16 чел. (3 мужчины, 13 женщин) в возрасте от 17–28 лет и 4 женщины в возрасте 35–40 лет, имеющих одного и более детей. В ходе работы было проведено количественное определение мРНК, характеризующее экспрессию генов *WDR11*, *CHD7*, *FGFR1*, *PROK2/PROKR2*, *DUSP6* и *GNRH1/GNRHR*, *LEPR* в образце с помощью ПЦР в реальном времени.

По полученным результатам изменения экспрессии генов-кандидатов на роль причины ИГГ присутствуют у всей исследуемой группы. Главным образом выявлены различия в экспрес-

сии генов прокинетицитиновой системы (*PROK2/PROKR2*) и гонадолибериновой системы (*GNRH1/GNRHR*). Система *PROK2/PROKR2* играет критическую роль в процессах созревания и выживания ГнРГ нейронов. Система *GNRH1/GNRHR* обеспечивает биологическое действие ГнРГ, регулирует синтез и секрецию ЛГ и ФСГ. У всех пациентов снижена экспрессия генов *GNRH1/GNRHR* в крови по сравнению с контрольной выборкой. У двух пациентов значительно повышена экспрессия *PROK2* относительно контроля. Также определены в единичных случаях изменения у пациентов в экспрессии генов *FGFR1* (снижена), *DUSP6* (повышена). Транскрипционный профиль генов *WDR11*, *LEPR* не отличался в исследуемой группе от контрольной выборки.

Таким образом, из-за клинически фенотипического разнообразия форм ИГГ выявление причин возникновения заболевания в каждом конкретном случае должно основываться на тщательном анализе генетических взаимодействий.

Распространённость генетических аномалий, ассоциированных с мужским бесплодием, у пациентов Новосибирской области

Епанчинцева Е.А.^{1,2}, Селятицкая В.Г.²,
Максимова Ю.В.^{1,3}, Свиридова М.А.¹

¹ ООО «Новосибирский центр репродуктивной медицины», Россия, 630000, Новосибирск, ул. Героев Революции, 3, e-mail: info@artmedgroup.ru, тел.: 3190312

² ФГБУ «Научный центр клинической и экспериментальной медицины» СО РАМН,

Россия, 630117, Новосибирск, ул. Тимакова, 2

³ ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России, 630091, г.Новосибирск, Красный проспект, 52

Бесплодие — это отсутствие зачатия в течение одного года у здоровой семейной пары супругов, находящихся в репродуктивном периоде и не применяющих средства контрацепции. Распространённость бесплодия в мире составляет до 15%, а в РФ достигает 19–20%. До 5% семейных пар остаются бесплодными. Вклад мужского фактора в бесплодный брак составляет 50–60%, при этом 6% мужского бесплодия обусловлено наследственными аномалиями, влияющими на фертильность мужчины. Из них 4,5% составляет различная хромосомная патология, такая как 47XXY, транслокационные формы хромосомной патологии, инверсии и т.д., а 1,5% составляют мутации гена *CFTR* и делеции региона AZF Y-хромосомы. Наличие генетических нарушений у мужчины может быть причиной абсолютной инфертильности, может повышать риск анеуплоидии или несбалансированного хромосомного набора плода и увеличивать риск невынашивания беременности. Для рождения здорового ребёнка при генетических нарушениях показано проведение вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) в объёме экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) и предимплантационной генетической диагностики (ПГД). На сегодняшний момент в нормативных документах, регулирующих применение ВРТ в РФ, кариотипирование не входит в перечень обязательного обследования. Целью исследования было выявление распространённости генетических аномалий, ассоциированных с мужским бесплодием, у пациентов Новосибирского центра репродуктивной медицины. В группу исследования были включены 539 мужчин, проживающих в Новосибирской области и обратившихся с жалобами на бесплодие в браке. Средний возраст составил 34,3 года, средний стаж бесплодия 4,9 года. Пациентам был определен кариотип (по лейкоцитам периферической крови), при снижении концентрации сперматозоидов (менее 5 млн/мл) — выполнен анализ по определению делеций региона AZF Y-хромосомы и поиск мутаций в гене *CFTR*. Показано, что распространённость генетических аномалий, ассоциированных с мужским бесплодием, составила 4,72%. Учитывая полученные результаты, предлагаем включить

в перечень обязательного обследования перед применением ВРТ кариотипирование у мужчин.

Распространённость врождённых пороков развития обязательного учёта у новорожденных в Республике Бурятия

Еремина Е.Р.¹, Назаренко Л.П.², Минайчева Л.И.²

¹ ГАУЗ «Республиканский перинатальный центр», г. Улан-Удэ, ereelrob@rambler.ru

² ФГБНУ «НИИ медицинской генетики», г. Томск

Задачами генетического мониторинга врождённых пороков развития (ВПР) являются изучение их этиологии, выявление и контроль новых тератогенных факторов среды, оценка динамики популяционных показателей частот ВПР, разработка программ профилактики.

В Республике Бурятия с 2005 по 2013 гг. определена частота ВПР и динамика её показателей. Обязательной регистрации подлежали (приказ №268 МЗ РФ) аномалии развития, которые выявлены врачом при осмотре родившегося ребёнка, а также случаи пороков (включая ВПР внутренних органов) с высокой летальностью, а также ВПР, диагностируемых при патолого-анатомическом исследовании (анэнцефалия, спинномозговая грыжа, энцефалоцеле, гидроцефалия, микротия, транспозиция крупных сосудов, гипоплазия левого сердца, расщелина неба, расщелина губы и/или неба, атрезия пищевода, атрезия ануса, агенезия или дисгенезия почек, гипоспадия, эписпадия, экстрофия мочевого пузыря, редуцированные пороки конечностей, диафрагмальная грыжа, омфалоцеле, гастрошизис, синдром Дауна и множественные ВПР).

За девятилетний интервал в Республике зарегистрировано 141 006 новорождённых, из них — 668 детей с пороками развития, подлежащими обязательному учёту. Статистическая обработка результатов проведена посредством корреляционного анализа (Statistica 7.0).

Суммарная частота 21 формы ВПР в Республике Бурятия в 2005—2013 гг. варьировала в небольшом диапазоне (4,2—5,3%) и не имела статистически значимой корреляции с годом регистрации. При этом частоты ВПР обязательной регистрации в Республике Бурятия находятся в диапазоне средних значений частот ВПР по Российской Федерации (Демикова Н.С., Кобринский Б.А., 2011).

У новорождённых в Республике Бурятия установлено увеличение частоты одной формы ВПР обязательного учёта — агенезии или дисгенезии почек (коэффициент корреляции составил 0,84). Рост показателя частоты пороков развития почек наблюдается в Самарской области (Ненашева С.А. и др., 2004), Республике Северная Осетия Алания (Лагуева Ф.К. и др., 2004), г. Баку (Азербайджан) (Сеидбекова Ф.О., 2014).

Статистически значимое снижение частоты зафиксировано для транспозиции крупных сосудов (0,1%) и гипоспадии (0,49%), коэффициент корреляции составил –0,81 и –0,68 соответственно.

Проведённый анализ частоты и структуры ВПР в регионе выявляет некоторые тенденции к изменению показателей частоты отдельных форм пороков развития. Возможно, это связано с изменением алгоритма наблюдения беременных и внедрением в регионе массовой пренатальной диагностики нарушений развития у плода.

Геногеографические биобанки на службе у персонализированной медицины

Жабегин М.К., Аскапулы А., Сабитов Ж., Акильжанова А., Балаковский О.П.

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

mzhabagin@gmail.com

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

Персонализированная медицина рассматривается как новый вектор науки и практики, связанный с достижениями секвенирования генома человека и входением в геномную эру. Необходимыми условиями развития персонализированной медицины являются исследования в области геномной медицины в совокупности с эпидемиологией наследственных и мультифакторных заболеваний. Однако зачастую ограничения на геномный (GWAS) и эпигеномный (EWAS) поиск ассоциаций с заболеваниями. Поэтому логический переход к персонализированной медицине индивида должен осуществляться через персонализированную медицину популяций. Геногеографические биобанки и популяционные исследования становятся необходимым инструментом персонализированной медицины, благодаря научно обоснованным технологиям выявления структуры генофонда и его пространственной изменчивости.

Для этих целей в Центре наук о жизни Назарбаев Университета идет формирование собственного биобанка казахской популяции как основы для развития персонализированной медицины в Казахстане. Первым этапом исследований является установление путей и этапов формирования казахского генофонда, его геногеографических особенностей и пространственно-временной динамики. На данный момент биобанк включает 1200 образцов здоровых неродственных между собой мужчин Алматинской, Жамбылской и Южно-Казахстанской областей (15 районов, 78 населённых пунктов).

Формирование геногеографического биобанка ведется по строгим критериям отбора участников: учёт генетически эффективных миграций, некоррелированных гаплотипов и охвата внутренней генетической структуры популяции. В данном случае ведется тесная и тщательная работа с этнографами в фиксировании генеалогии (Шежире) с целью охвата всех крупных родоплеменных групп, проживающих в изучаемом регионе.

Работа поддержана программно целевым финансированием Назарбаев Университета.

Методические аспекты оценки генотоксичности в половых клетках

Жанатаев А.К., Дурнев А.Д.

ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», Россия, 125315, г. Москва, ул. Балтийская, д. 8. E-mail: azhanataev@yandex.ru

Современное развитие исследований в области генотоксикологии акцентируется на соматическом мутагенезе. Одной из определяющих причин этого является отсутствие адекватной методической базы оценки генотоксических событий в половых клетках. Имеющиеся на сегодня в распоряжении методы обладают низкой специфичностью, трудоемки и дорогостоящи, что затрудняет их применение для получения репрезентативных экспериментальных данных.

Указанное определяет в качестве текущей задачи генотоксикологии совершенствование методологии оценки генотоксичности в половых клетках. В рамках обозначенной проблематики в нашей лаборатории активно ведутся исследования по оптимизации существующих методов и валидации и внедрению новых.

На сегодняшний день усовершенствована методика цитогенетического анализа в сперматогониях и сперматоцитах, ведутся исследования по её верификации. Оптимизирован метод ДНК-комет для оценки ДНК-повреждений в спер-

матогониях и сперматоцитах. Проводятся исследования по отбору и верификации методов для оценки целостности ДНК сперматозоидов.

Особое внимание уделяется практически не изученной проблеме оценки генотоксических событий в ооцитах. Разработана и предложена методика регистрации цитогенетических эффектов в ооцитах мышей. С целью верификации методики оценены кластогенные и анеугенные эффекты широкого ряда модельных генотоксикантов. Как новая задача определён поиск подходов к оценке первичных ДНК-повреждений в ооцитах.

В рамках генотоксикологических исследований лаборатории ведутся исследования по новой проблематике — поиску и разработке методов по оценке риска вертикального переноса в половые клетки последовательностей препаратов для генной терапии.

В докладе проведен анализ современного состояния проблемы оценки генотоксичности в половых клетках, представлены направления исследований, проводимых авторами, достижения и перспективы их практического применения.

Частота всех форм ВПР у новорождённых, по данным генетического регистра «Ymit» и Европейского международного регистра EUROCAT

**Жанатаева Д.Ж., Нагимтаева А.А.,
Назарова Л.К., Абильдинова Г.Ж.**

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

На базе отделения лабораторной диагностики был создан регистр «Ymit», для динамического наблюдения за частотой ВПР в системе генетического мониторинга. По данным Международного центра EUROCAT, объединяющего более 20 стран Европейского экономического содружества, суммарная частота ВПР варьирует в широких пределах — от 10,3 до 32,3 на 1000 новорождённых. При сравнении средне популяционных частот ВПР в Казахстане и странах ближнего и дальнего зарубежья отмечается неравномерность их распространения. Это может быть обусловлено своеобразием экологической обстановки обследованных регионов, различием методов учёта ВПР, качеством и принципами диагностики, разницей в годах исследования. В ходе исследования была выделена группа пороков развития, подлежащих учёту согласно перечню Международного регистра врождённых пороков развития (21 нозологической формы), и проанализирована в сравнении с данными генетического регистра «Ymit». Суммарная частота этих врождённых пороков составила 10,6 на 1000 новорождённых, что соответствует средним значениям Международного регистра. По результатам проведённых исследований в нашей базе, в сравнении с данными EUROCAT чаще встречаются синдром Дауна, множественные врождённые пороки развития, врождённые пороки сердца (ВПС), а также такие пороки развития, как гидроцефалия, диафрагмальная грыжа, Spina bifida. При сравнении частоты ВПР в нашем регистре с аналогичными показателями в EUROCAT было выявлено, что распространённость ряда пороков центральной нервной системы (анэнцефалия, энцефалоселе), а также микротий, агенезий почек и экстротий мочевого пузыря в 2—3 раза ниже. Такие виды врождённых пороков, как микрофтальмия и анофтальмия, встречаются в нашем регионе в 3 раза реже, чем по данным, зафиксированным Европейским регистром. Ведущими или базовыми в структуре ВПР по данным нашего регистра являются синдром Дауна и множественные пороки развития.

Роль ломкого сайта *FRA14B* в формировании хромосомных перестроек в гене *GPHN*

Жегло Д.¹, Брюкнер Л.М.², Савельева Л.²

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

² Немецкий центр исследования рака (DKFZ), Гейдельберг, Германия
dianazheglo@gmail.com

Конститутивные фрагильные сайты (КФС) — это специфические участки хромосом, предрасположенные к формированию разрывов, наблюдаемых при цитогенетическом анализе метафазных хромосом, в ответ на репликативный стресс. В отличие от редких ломких сайтов, КФС выявляются у всех людей как нормальный структурный компонент хромосом. В то же время, многочисленные исследования свидетельствуют о вовлечении этих районов в формирование точек разрывов соматических и герминальных хромосомных перестроек, ассоциированных, в частности, с онкогенезом и аутизмом. Молекулярное картирование КФС позволяет локализовать участки повышенной хромосомной нестабильности и выявить расположенные в них конкретные гены-кандидаты различных заболеваний, однако этот подход был применён только для 10 более чем из 90 известных КФС.

Точные границы *FRA14B* были определены с помощью шестичетного FISH с BAC-зондами на метафазных препаратах иммортализованных культур лимфоцитов, обработанных ингибитором репликации афидиколином. Было установлено, что ломкий сайт занимает 765 Kb внутри 14q23.3 и включает 1—10 экзоны гена *GPHN*. *GPHN* кодирует белок, участвующий в биосинтезе молибденового кофактора и «закоривании» тормозных нейромедиаторных рецепторов в постсинаптической мембране. Все 10 ранее описанных мутаций в *GPHN*, ассоциированных с риском аутизма, шизофрении и эпилепсии, представляют собой редкие или *de novo* субмикроскопические делеции с нестандартными точками разрывов, расположенные в ломкой части гена. Анализ ДНК-профилей 1046 раковых клеточных линий из Broad-Novartis Cancer Cell Line Encyclopedia показал аккумуляцию фокальных делеций (<1 Mb) внутри *FRA14B*. Район-специфический микроматричный анализ ДНК 160 раковых образцов выявил 12 вариаций числа копий, подтверждённых с помощью FISH и ПЦР, включая 9 делеций, 2 дупликации и одну комплексную перестройку. В точках разрывов обнаружены микромомологии или короткие нуклеотидные вставки, являющиеся следами негомологичных механизмов репарации, таких как негомологичное соединение концов и переключение матрицы в процессе репликации. В двух клеточных линиях обнаружены aberrантные транскрипты *GPHN*. Такие расположение и структура перестроек характерны для районов ломких сайтов хромосом и указывают на роль *FRA14B* в формировании патогенных мутаций гена *GPHN*.

Взаимодействие генетики человека и кишечных бактерий и их влияние на предрасположенность к мультифакторным заболеваниям

Жернакова А.

Кафедра генетики, университет г.Гронингена, Нидерланды

Роль кишечных бактерий в развитии болезней и старении была предложена Ильёй Мечниковым более ста лет назад. Однако последние несколько лет эта область исследований получила особенно широкую популярность благодаря возможностям использования современных методов секвенирования для генотипирования бактерий.

В этом докладе представлены данные о современных методах определения популяций кишечных бактерий и о примене-

нии этих методов на примере двух исследований. Целью первого исследования было определение роли кишечных бактерий в оценке уровня метаболизма липидов и метаболического синдрома. Анализ проводился в голландской популяционной когорте LifeLines DEEP. В этой когорте, состоящей из 1500 человек, мы определили популяцию кишечных бактерий методом секвенирования, а также определили генетические полиморфизмы человека методом генотипирования образцов на чипах для полногеномного анализа ассоциаций. Для всех образцов были проведены измерения общего холестерина, холестерина низкой и высокой плотности триглицеридов, и других маркёров обмена липидов. В результате проведённого анализа были обнаружены десятки бактерий, сцепленных с изменением в липидном обмене. Использование метода рандомизации Менделя позволило оценить, что кишечные бактерии влияют на уровень липидного обмена независимо от генетических факторов predispositionности и могут объяснить до 6% дисперсии уровня липидов крови.

Целью второго исследования было выявление бактерий — маркёров воспалительных заболеваний кишечника, таких, как болезнь Крона, неспецифический язвенный колит и синдром раздражённой кишки. Анализ проводился путём сравнения популяций бактерий выявленных у пациентов (750 чел.), и здоровых (750 чел.). Наибольший сдвиг в популяции бактерий был обнаружен у пациентов с болезнью Крона. Был также выделен целый ряд факторов, влияющих на микробиом кишечника, таких, как возраст, применение ряда лекарственных препаратов и наличие генетических полиморфизмов.

Синдром Айкарди—Гутьерс в группе детей с эпилептической энцефалопатией

Жилина С.С.^{1,2}, Беленикин М.С.¹, Брюханова Н.О.¹, Айвазян С.О.¹, Анянueva Т.В.¹, Мутовин Г.Р.^{1,4}, Мещерякова Т.И.¹, Петрин А.Н.^{1,3}, Марлычева Л.В.^{3,4}, Зинченко Р.А.^{3,4}

¹ ФГУЗ «Научно-практический центр медицинской помощи детям ДЗМ», 119620, Москва, ул. Авиаторов, д. 38. E-mail: szhyli-na@mail.ru

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

³ ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» МЗРФ, Москва, 127473, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

⁴ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1

В практике врача особое место занимают пациенты первых лет жизни с эпилептической энцефалопатией, резистентной к антиэпилептическим препаратам (АЭП). Спектр заболеваний в дифференциальной диагностике очень широк, от внутриутробных инфекций до редчайших генетических аномалий. Особенно труден бывает путь к правильному диагнозу у пациентов с патологией ЦНС сочетающейся с признаками системного воспаления. Заболевание этих пациентов получает ярлык внутриутробных или перинатальных вирусных инфекций даже при отсутствии строгих диагностических критериев. Синдром Айкарди—Гутьерс (AGS) относится к заболеваниям из группы прогрессирующих лейкоэнцефалопатий, демиелинизирующих заболеваний центральной нервной системы, характеризующийся кальцификацией базальных ганглиев, лейкодистрофией, приводящий к тяжёлым психомоторным расстройствам с высоким уровнем летальности. AGS является редким заболеванием, его истинная распространённость не известна. Скорее всего, это связано с недостаточной диагностикой заболевания, т.к. по своему началу и клиническому течению оно очень напоминает внутриутробные инфекции или наследственные обменные заболевания. AGS — генетически гетерогенным заболева-

нием и может быть вызвано мутациями в семи генах (*TERX1*, *RNASEH2B*, *RNASEH2C*, *RNASEH2A*, *SAMHD1*, *ADAR*, *IFIH1*). В настоящее время к синдрому AG отнесены ранее обособленные нозологические формы: энцефалит Кри и синдром псевдо-TORCH (синдром Берейтсера—Рейардона). В рамках научного исследования генов, ассоциированных с эпилепсией нами были обследованы 40 пациенты НПЦ Медпомощи детям с различными формами эпилептической энцефалопатии, резистентной к АЭП. У двоих выявлены мутации в гене *RNASEH2A*, у троих больных в гене *RNASEH2B*. Кроме того 3 пациентами диагноз установлен по клиническим критериям, включая типичную картину на КТ головного мозга без молекулярно-генетического подтверждения. Дифференциальный диагноз проводился между последствиями перенесённого вирусного или аутоиммунного энцефалита и нейродегенеративными заболеваниями, протекающими с эпилептическими припадками, включая болезни обмена.

Экспрессия генов *AURKA* и *MYCN* как критерий прогрессии рака предстательной железы

Жинжило Т.А.¹, Михайленко Д.С.^{1,2}, Сафронова Н.Ю.¹, Ковченко Г.А.¹, Ефремов Г.Д.¹

¹ НИИ урологии им. Н.А. Лопаткина — филиал ФГБУ «ФМИЦ им. П.А. Герцена» Минздрава России; Москва, ул. 3-я Парковая, д. 51, к. 4

E-mail: tatyana-zhinzhilo@yandex.ru

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

Рак предстательной железы (РПЖ) — частое онкоурологическое заболевание. Стандартные схемы лечения метастатического РПЖ эффективны в течение 1–2 лет. Резистентность к гормональным препаратам в части случаев объясняется нейроэндокринной дифференцировкой (НЭД) РПЖ. Повышение концентрации сывороточного хромогенина А (ХгА) — один из первых признаков НЭД, который используют в скрининговых целях. Также при НЭД наблюдают гиперэкспрессию гена киназы клеточного цикла *Aurora kinase A* (*AURKA*) и транскрипционного фактора N-мус (*MYCN*). В связи с этим, актуальна разработка системы молекулярных маркёров НЭД при РПЖ, позволяющая оценить прогноз заболевания. Целью настоящей работы является анализ экспрессии генов *AURKA* и *MYCN* при доброкачественной гиперплазии (ДГПЖ), интраэпителиальной неоплазии (ПИН), в аденокарциномах простаты с различным уровнем ХгА и образцах РПЖ с НЭД. Исследовано 70 парафиновых блоков с биопсийным материалом простаты, разделенных на группы: аденокарцинома — 4, ПИН высокой степени — 10, ПИН низкой степени — 27, контроль (ДГПЖ и простатит) — 17, РПЖ с высоким ХгА — 4, РПЖ с низким ХгА — 3, РПЖ с НЭД — 5. Суммарная РНК образцов была выделена из парафиновых блоков с помощью набора Recover All™ Total Nucleic Acid Isolation kit, Applied Biosystems. Анализ экспрессии генов проводился методом ПЦР в реальном времени с использованием коммерческих TagMan-зондов Applied Biosystems (США), в качестве эндогенного контроля был использован ген *B2M*. Экспрессия *AURKA* обнаружена в 25% высокой и 40% низкой ПИН, 40% ДГПЖ и простатита, РПЖ: НЭД — 20%, высокий ХгА — 50%, низкий ХгА — экспрессия отсутствовала. Экспрессия *MYCN* была выявлена во всех случаях РПЖ, 92% — высокой и 81% — низкой ПИН, 82% ДГПЖ и простатита. Различий уровня экспрессии *AURKA* и *MYCN* среди групп обнаружено не было (t-критерий Стьюдента). С помощью точного критерия Фишера показано, что встречаемость сочетанной экспрессии двух генов достоверно различается при РПЖ, высокой и низкой ПИН (p<0,05). Таким образом, показан базовый уровень экспрессии генов *AURKA* и *MYCN* во всех исследованных группах, при этом частота сочетанной экспрессии этих генов повышена при ПИН относительно контроля

(ДГПЖ и простатита). Целесообразно дальнейшее увеличение выборки для оценки возможности использования *AURKA* и *MYCN* как молекулярно-генетических маркёров НЭД при РПЖ.

Технология полногеномного секвенирования в диагностике моногенных заболеваний

Жукова Е.А.¹, Глотов А.С.^{1,2}, Данилова М.М.^{1,2}, Пакин В.С.², Баранов В.С.^{1,2}

¹ ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

² ФГНБУ «НИИAGuP им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург
e-mail: anglotov@mail.ru

Исследование и диагностика наследственных болезней человека на сегодняшний день не возможны без применения новых методов исследования структуры молекулы ДНК. Одним из таких методов является технология полногеномного секвенирования ДНК (или технология секвенирования нового поколения — NGS).

Нами разработаны алгоритмы и принципы профилактической диагностики, с помощью технологии полногеномного секвенирования ДНК на основе «эффекта» полупроводниковой платформы (секвенатор «Ion Torrent»). В рамках этой технологии создана панель генов («амплисек»), для скрининга 845 участков генов частых наследственных болезней (экзоны генов *APC*, *ATP7B*, *PAH*, *F8*, *F9*, *GALT*, *GJB2*, *HFE*, *KRAS*, *MECP2*, *MED12*, *NF1*, *NF2*, *NKX2-5*, *PKD1*, *PKHD1*, *SERPINA1*, *SMAD4*). Разработана также панель генов для скрининга более 95% всех известных мутаций при кардиомиопатиях (242 участка генов *ACTC1*, *MYBPC3*, *MYH7*, *MYL2*, *MYL3*, *TNNI3*, *TNNT2*, *TPM1*, *CASQ2*). Данная технология апробирована на биообразцах семей больных кардиомиопатией, нейрофиброматозом, галактоземией, гемофилией А и др.

В целом, проведённые испытания показали высокую эффективность технологии полногеномного секвенирования для анализа одностандартного полиморфизма (SNP), но выявили определённые ограничения при исследовании повторяющихся последовательностей ДНК. Таким образом, данная технология имеет большие перспективы при проведении широкомасштабных генетических исследований, но не подменяет уже существующие методы ДНК-диагностики.

Работа выполнена при частичном использовании оборудования РЦ «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ.

Биоиндикация мутагенов в воде: гигиенический аспект

Журков В.С., Ахальцева Л.В.

ФГБУ «НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина» Минздрава России,
119992, Москва, Погодинская ул., д.10, стр. 1.
E-mail: vszhurkov@mail.ru

Интегральным методом биоиндикации мутагенов в воде является анализ суммарной мутагенной активности (СМА), т.е. характеристика мутагенной активности химических загрязнений воды, с использованием в качестве индикатора биологические тесты. В Институте 30 лет проводятся исследования по оценке СМА воды и использованию результатов для профилактики мутагенных эффектов у человека (гигиенический аспект). В качестве биологического индикатора использован тест *Salmonella*/микросомы (тест Эймса). Разработаны методики подготовки проб воды для оценки мутагенности, схемы проведения экспериментов, система показателей СМА. Основные направления исследований включали:

Анализ СМА воды водоисточников. В период 1991—2005 гг. проведен мониторинг СМА воды Москворецкого и Волжского

водоисточников г.Москвы. Доля проб с СМА воды Москворецкого водоисточника на 31,4% была выше, чем Волжского водоисточника 18%. Уровень СМА проб воды классифицирован как слабый. Выявлены сезонные колебания СМА воды. Наибольшая доля проб с СМА была в паводковый период. Анализ воды рек в черте крупных городов: Москва река, Днепр, Нева и Волга показал СМА всех проб, а степень мутагенного загрязнения классифицирована как умеренная и высокая. Из 25 проб воды подземных водоисточников СМА показана в двух, причём эффект был на границе значимого.

Анализ СМА водопроводной воды. В 1989—2005 гг. проведён контроль СМА водопроводной воды в г.Москве. На водопроводных станциях (ВС) для обеззараживания воды применялось хлорирование. Доля проб воды с СМА на ВС Москворецкого водоисточника составила 90%, а уровень СМА варьировал от слабого до умеренного. Доля проб с СМА на ВС Волжского водоисточника приближалась к 100%, а уровень СМА был в основном умеренным. Анализ связи СМА водопроводной воды от показателей качества исходной и водопроводной воды и способов водоподготовки показал значимую положительную корреляцию СМА с цветностью и перманганатной окисляемостью воды (индикаторы предшественников галогенорганических соединений, образующихся при хлорировании) и дозой хлора при первичном хлорировании. Выявлена значимая связь СМА воды с концентрацией в воде хлороформа, дибромхлорметана и дихлорфторметана (химические индикаторы образования мутагенных галогенорганических соединений). Отмечено снижение как доли проб воды с СМА, так и уровня СМА водопроводной воды в период с 1998 по 2005 гг. по сравнению с 1991—1996 гг.

Оценка эффективности технологической водоподготовки в отношении СМА. Изучено влияние озонирования, озонирования и хлорирования, двуокиси хлора и гипохлорита натрия на СМА воды поверхностных вод. Исследования проведены на экспериментальных и промышленных установках. Все изученные технологии снижали СМА воды по сравнению с применением только хлорирования.

Анализ разных способов кондиционирования питьевой воды на уровень СМА. Проведена оценка различных методов физико-химической или физической обработки воды на уровень СМА хлорированной водопроводной воды. Проведена оценка СМА бутилированной питьевой воды. Изучено влияние разных режимов иодирования на СМА хлорированной питьевой воды из поверхностных водоисточников. Определён оптимальный режим иодирования, который снимает или существенно снижает СМА хлорированной воды.

Случай синдрома Бисекер — Янг — Симпсона у трёхмесячного мальчика

Журкова Н.В., Савостьянов К.В., Пушков А.А., Мигали А.В., Акоев Ю.С.

Научный центр здоровья детей, Москва

Синдром Бисекер—Янг—Симпсон (Biesecker—Young—Simpson) — редкое наследственное заболевание, с частотой встречаемости менее 1 : 1 000 000 новорождённых, характеризующееся блефарофимозом, гипоплазией зубов, стенозом наружного слухового канала, гипотериозом, маскообразным, гипомимичным лицом и умственной отсталостью. Заболевание обусловлено мутациями в гене *KAT6B*. Ген картирован на длинном плече 10 хромосомы в хромосомной области 10q22.2. Показано, что мутации 18-го экзона данного гена в позициях с.3018, с.3892 и с.5389 являются причиной развития синдрома Бисекер—Янг—Симпсона.

Ребёнок консультирован и обследован специалистами центра. При осмотре обращает на себя внимание задержка физического развития, гипомимичное лицо. Широкая переносица, крупный нос с круглым кончиком, гипертелоризм глаз, блефарофимоз, гипоплазия надбровных дуг. Длинный фильтр, тонкая

верхняя губа, мясистая нижняя губа. Маленькие диспластичные, низко посаженные ушные раковины. Преаурикулярные фистулы с двух сторон. Арахнодактилия. Длинный первый палец кистей рук. Наложение 2—4 пальцев стоп. Широкий и длинный первый палец стоп. Укорочение и искривление голени. Гипоплазия мошонки, двусторонний крипторхизм. Двусторонняя паховая грыжа. Выраженная диффузная мышечная гипотония. Задержка психомоторного развития. При ультразвуковом исследовании выявлено: умеренное расширение правого предсердия, межпредсердное сообщение, определяются два тканевых образования в виде валиков (утолщение слизистой), в лоханках обеих почек скопления гиперэхогенной взвеси со слабой тенью 2—5,5 мм. При отоларингологическом обследовании выявлены парез правой голосовой складки, двусторонняя тубарная дисфункция, врожденные околоушные свищи с обеих сторон.

Проведено молекулярно-генетическое обследование на синдром Бисекер—Янг—Симпсон. Методом прямого автоматического секвенирования был исследован экзон 18 гена *KAT6B*, а также прилегающие интронные области. Была выявлена делеция *c.5149_5150del (p.Ser1717Glnfs*57)* в гетерозиготном состоянии, приводящая к преждевременной термации трансляции аминокислотной последовательности. Делеция ранее не описана, по данным компьютерного анализа (Alamut, version 2.2.2) может являться патогенной.

Учитывая данные клинической картины, а также данные молекулярно-генетического исследования, у ребёнка подтверждён диагноз очень редкого наследственного заболевания — синдрома Бисекер—Янг—Симпсона.

Генетическое тестирование — основа предиктивно-персонализированной медицины (от теории к практике)

**Жученко Н.А., Тителъ Ю.Б., Якоб О.В.,
Хаммад Е.В., Асанов А.Ю.**

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, кафедра медицинской генетики, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д.8, стр.3; e-mail: zhychenko64@mail.ru

За весьма короткий период с момента расшифровки генома человека, были достигнуты успехи в идентификации патогенетически значимых генетических комплексов, которые в сочетании с неблагоприятными факторами среды приводят к возникновению многих социально значимых заболеваний. Возникло и получило развитие новое направление — Персонализированная, Предиктивная, Превентивная, Партисипаторная Медицина (ПППМ), базирующаяся на данных о структуре и функциях генома человека.

В рамках задач предиктивно-персонализированной медицины в течение 4 лет проводится наблюдение за 176 пациентами из разных клиник г.Москвы. Всем пациентам (после получения Информированного согласия) было выполнено генетическое тестирование. Результаты генетического тестирования, сопоставляли с клиническими проявлениями, лабораторными и инструментальными методами исследования, а также образом жизни, что позволило (врачебному консилиуму): определить группы риска; разработать тактику ведения пациента (предиктивная компонента); составить индивидуальную программу снижения риска, предложить пациенту (персонализированную) программу динамического (диспансерного) мониторинга. У пациентов, имеющих клинические симптомы заболеваний определялась роль и место генетических исследований в профилактике и предотвращении прогрессирования заболеваний, а также в подборе терапии. Выявление полиморфизмов исследованных генов помогало врачу определить индивидуальные особенности пациента, избежать необоснованных или даже противопоказанных ему процедур, лечебных мероприятий.

Таким образом, генетическое тестирование позволило более активно выявлять и формировать группы риска у обследо-

мых пациентов, на доклиническом этапе проводить предиктивно-персонализированные мероприятия, мониторировать (в рамках диспансерного наблюдения 2 раза в год) и корректировать как лечение, так и программу по снижению риска развития заболевания. И как показало исследование (для некоторых заболеваний такой подход экономически выгоден).

Диагностика проксимальной спинальной мышечной атрофии I—IV типов: новые возможности

Забненкова В.В., Поляков А.В.

ФГБУ «МГНЦ» РАМН;
115478, Россия, Москва, ул. Москворечье, д. 1,
V_Zabnenkova@dnalab.ru

Проксимальная спинальная мышечная атрофия (СМА) — одно из наиболее тяжёлых нейромышечных заболеваний с аутосомно-рецессивным типом наследования. Выделяют четыре клинических типа заболевания на основе различий в возрасте начала, тяжести течения и продолжительности жизни. Эти типы СМА являются аллельными генетическими вариантами, развитие которых обусловлено мутациями в теломерной копии гена *SMN* — *SMN1*. Основным типом мутаций в этом гене являются делеции экзона 7 и/или 8, которые выявляются у 95% больных. Остальные 5% больных являются компаунд-гетерозиготами по делеции в одной копии гена *SMN1* и точковой мутации в другой.

Подтверждающим критерием при постановке диагноза СМА является выявление у пробанда мажорной мутации в гене *SMN1* — делеции экзона 7 и/или 8 в гомозиготном состоянии. Для этих целей необходимым и достаточным уже много лет является применение полуколичественного ПЦР-ПДРФ-анализа. Этот метод используется и для проведения пренатальной ДНК-диагностики в семьях с идентифицированной мутацией, в сочетании с косвенной диагностикой с использованием полиморфных ДНК-маркёров, тесно сцепленных с геном *SMN*.

Однако при отсутствии у больного делеции экзона 7 и/или 8 гена *SMN1* в гомозиготном состоянии и при уверенности врача в клиническом диагнозе останавливаться не стоит. На сегодняшний день возможности лабораторий ДНК-диагностики позволяют продолжить исследование. Пациенту проводится количественный анализ числа копий генов *SMN*, оптимальным диагностическим методом для которого является MLPA. При детекции у больного СМА одной копии гена *SMN1*, такому пациенту проводится поиск малых мутаций в гене *SMN1* методом прямого автоматического секвенирования. При выявлении у больного двух копий гена *SMN1* или одной копии гена *SMN1* в сочетании с отсутствием в ней точковой мутации следует пересмотреть возможный диагноз для данного пациента.

Определение статуса носителя должно осуществляться только количественным методом. Рекомендуется семьям, в которых биологический материал больного ребёнка не доступен, вновь созданным парам, один из супругов в которых имеет в предыдущем браке больного СМА ребёнка, родственникам семей СМА, при скрининге носительства генов наиболее частых наследственных заболеваний в программе ЭКО, при подготовке к беременности.

Изучение молекулярных аспектов наследственных форм первичной открытоугольной глаукомы в Республике Башкортостан

**Зайнитова А.Р.¹, Джемилева Л.У.¹, Загидуллина А.Ш.²,
Лобов С.Л.¹, Хасанова Р.Р.³, Ахметова В.Л.¹,
Хусаинова Р.И.¹, Хидиятова И.М.^{1,3},
Хуснутдинова Э.К.^{1,3}**

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

² ФГБОУ ВПО «Башкирский Государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Россия, 450000, г.Уфа, ул. Ленина, 3

³ ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», Россия, 450076, г.Уфа, ул. Заки Валиди, 32

Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) относится к группе заболеваний с наследственной предрасположенностью, возникающих и развивающихся под воздействием наследственности и окружающей среды. Целью исследования являлось определение диагностической значимости мутаций в гене миопии (MYOC) у пациентов с наследственными формами первичной открытоугольной глаукомы из Республики Башкортостан. Обследовано 1045 пациентов (496 пациентов с ПОУГ и 589 индивидов из группы контроля), проживающих в Республике Башкортостан. У 8 неродственных пациентов мутация p.Q368X (с.1102C>T) в гене MYOC была выявлена в гетерозиготном состоянии, что составляет 1,6% всех обследованных семей с ПОУГ. По этнической принадлежности пациенты с мутацией p.Q368X (с.1102C>T) распределились следующим образом: 6 русских, 1 татарин и 1 метис (русский/татарин). У всех пациентов был отягощён анамнез по ПОУГ. Мутация p.Q368X (с.1102C>T) была идентифицирована в гетерозиготном состоянии у одного русского индивида из группы контроля (0,17%). Также в гене MYOC были обнаружены две мутации с.980C>A (p.Ala327Asp) и p.Asn450His (с.1348A>C) в гетерозиготном состоянии у одного пробанда русской этнической принадлежности с наследственной формой ПОУГ и метиса (башкир/татарин), соответственно. Обе мутации являются патогенными. Для мутации p.Q368X характерна более поздняя манифестация заболевания и более доброкачественное течение по сравнению с мутациями с.980C>A (p.Ala327Asp) и p.Asn450His (с.1348A>C), которые приводят к развитию более тяжёлых, рано манифестирующих форм ПОУГ с агрессивным течением.

Работа поддержана грантами РФФИ №14-04-97002-р_поволжье_а, 14-04-97007_р_поволжье_а, 12-04-97004-р_поволжье_а.

Генетическое образование в КубГМУ, ориентированное на медицину будущего

Зайцева А.Т., Голубцов В.И., Лазарев К.Ю., Корхмазова С.А.

Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, ул.Седина 4, olga_zaitseva@bk.ru

Для восприятия и понимания современных концепций генетики человека и медицинской генетики, эффективного использования достижений молекулярной генетики в диагностике, лечении и профилактике наследственных и врождённых заболеваний необходимо особое внимание к преподаванию генетики в медицинских вузах. С учётом перехода в эру персонализированной, предиктивной, профилактической медицины врач любой специальности должен быть компетентен в области последних достижений генетики. На первом этапе генетического образования в КубГМУ на кафедре биологии с курсом медицинской генетики студентам первого курса преподаются основы генетики человека. На втором этапе — преподается медицинская генетика студентам 4 курса лечебного, педиатрического, медико-профилактического, стоматологического факультетов. По новым ФГОС, учебный модуль «медицинская генетика» изучается в дисциплине неврологии, медицинская генетика и нейрохирургия. На кафедре биологии с курсом медицинской генетики остались часы для её преподавания (от 24 ч до 48 ч), так как кафедра имеет многолетний опыт, квалифицированных специалистов, современную лабораторию молекулярно-генетических исследований, которая используется в учебном процессе; согласованные программы генети-

ческого образования с другими кафедрами ВУЗа. На третьем этапе — преподавание генетики как смежной и фундаментальной дисциплины осуществляется на кафедре для клинических ординаторов и интернов разных специальностей (с 1999 г. как смежной дисциплины — для десяти специальностей; с 2012 г. как фундаментальной — для 56 специальностей). С учётом специфики каждой специальности составлены рабочие программы. Клинические интерны, ординаторы, имеют возможность ознакомиться с современными методами ДНК-диагностики в лаборатории кафедры, реально оценить возможности молекулярно-генетических исследований в практической медицине, увидеть перспективу научных исследований с использованием ДНК-технологий. Для углубления генетических знаний проводятся элективные курсы, студенты вовлекаются в НИРС кафедры. В 2014 г. студенты и клинический ординатор получили гранты на возможность проведения научных молекулярно-генетических исследований.

Таким образом, у выпускников вуза формируется генетическое мышление, которое позволяет врачам разных специальностей быть ориентированными на персонализированную, предиктивную, профилактическую медицину.

Диагностика лёгочной артериальной гипертензии: генетический подход к диагнозу

Затейщиков Д.А.

ГБУЗ «Городская клиническая больница №17», Москва, 119620, Вольнская улица, 7, dz@bk.ru

ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов клинической помощи и медицинских технологий» ФМБА России, Москва, Ореховый бульвар, 28м

В течение последних 15 лет представления о механизмах развития, способах выявления и лечения лёгочной гипертензии (ЛГ) претерпели революционные изменения. К настоящему моменту выделено пять вариантов заболевания, классифицированных в зависимости от его причины. Выделена наследственная форма лёгочной артериальной гипертензии (ЛАГ), причём, в настоящее время большая часть наследуемых дефектов удалось выявить. Подобные возможности появились в связи с внедрением в клиническую практику современных методик секвенирования, которые позволяют при относительно небольших затратах за достаточно короткий срок провести подобное обследование. Наряду с мутациями в трёх основных генах — *ACVRL1*, *BMPR2*, *ENG*, которые, как считается, доказано приводят к развитию ЛАГ, имеется ещё как минимум 9 генов (*BMPR1B*, *CAV1*, *KCNA5*, *KCNK3*, *NOTCH3*, *SMAD1*, *SMAD4*, *SMAD9*, *GDF2*), мутации в которых также могут приводить к этому заболеванию. Выявление специфической мутации в некоторых случаях даёт возможность отнести больного к соответствующей группе, что, в свою очередь, позволяет назначить специфическое лечение именно тем, кому оно может увеличить продолжительность жизни. Кроме того, найденная мутация становится основой для проведения каскадного скрининга, помогая выявить лиц, имеющих повышенный риск развития лёгочной гипертензии. В России имеется настоятельная необходимость организации генетических лабораторий, имеющих возможность рутинного проведения подобных исследований.

Влияние HINDIII полиморфизма гена, кодирующего липоротейнлипазу, на эффективность терапии розувастатином у пациентов с ишемической болезнью сердца и атерогенными гиперлипидемиями

Звягина М.В., Солодилова М.А., Полоников А.В., Маль Г.С., Бушуева О.Ю., Быканова М.А., Алыменко М.А., Летова И.М., Грибовская И. А

ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет», 305004, г. Курск, ул. К. Маркса 3;
zv.mar.v87@gmail.com

Полиморфизмы гена, кодирующего ЛПЛ, связаны с различной функциональной активностью фермента и обуславливают предрасположенность к дислипидемии. Одним из частых полиморфизмов гена ЛПЛ является LPLHindIII (T+495G) (rs320) полиморфизм. Носительство Т аллеля ассоциировано со снижением базального уровня ТГ и повышением уровня липопротеидов высокой плотности (ХС ЛВП). Эта закономерность обнаружена неоднократно в ретроспективных исследованиях, однако влияние генотипа на эффективность гиполипидемической терапии изучено недостаточно.

Под наблюдением находились 62 мужчины с ИБС и атерогенными ГЛП, в возрасте от 40 до 61 года. Исследование проведено рандомизированным, простым, проспективным методом. Фармакологическая коррекция проводилась розувастатином в дозе 10 мг/сутки в течение года с контролем параметров липидного обмена (ЛО). Выделение геномной ДНК осуществлялось стандартным двухэтапным методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование полиморфизмов LPLHindIII (T+495G) (rs320) проведено ПЦР в режиме реального времени. Проверка вида распределения осуществлялась с помощью критериев Колмогорова—Смирнова, количественные признаки были выражены медианой и 25—75% интерквартильным размахом (в скобках). Сравнение групп проводилось с использованием рангового дисперсионного анализа по Фридмену, критерия χ^2 , критерия Манна—Уитни. Критический уровень значимости принимался равным 0,05. Статистическая обработка проведена с использованием Statistica v.10 (StatSoft Inc., США).

Частота генотипов ЛПЛ HindIII +495GG, +495GT, +495TT были 52,5, 44 и 0,5% соответственно. Распределение частот генотипов соответствовало закону Харди—Вайнберга.

ТТ полиморфизм гена ЛПЛ HindIII обнаружил статистически значимое влияние на базальный уровень ТГ. Получено статистически значимое взаимодействие между носительством мутантного аллеля Т и большими уровнями ХС ЛВП, за исключением единственной точки 8 недель (критерий Манна—Уитни, $p = 0,1052$). У гомозигот по Т аллелю прослеживалась тенденция к меньшей эффективности лечения розувастатином в дозе 10 мг/сутки по уровню ХС ЛНП.

Прогностическое значение хромосомных aberrаций у больных множественной миеломой

Зельцер А.Н., Морданов С.В., Бурнашева Е.В.,
Шатохин Ю.В., Каплина А.А., Шамрай В.С.

ГБОУ ВПО РостГМУ Минздрава России,
344022, Ростов-на-Дону, пер.Нахичеванский, 29
ГБУ РО РОКБ №1, 344015,
Ростов-на-Дону, ул. Благодатная, 170
azelcer@yandex.ru

Генетические и цитогенетические аномалии опухолевых клеток в большинстве случаев определяют особенности течения гематологических неоплазий. Уникальные биологические свойства опухолевых гемопоэтических клеток позволяют выделять подгруппы пациентов, отличающихся эффективностью базисной терапии и прогнозом заболевания. В настоящее время одним из современных подходов в изучении патогенетических механизмов развития и прогрессии множественной миеломы (ММ) является применение флуоресцентной гибридизации хромосом *in situ* (FISH) для выявления скрытых хромосомных aberrаций (ХА).

Цель — изучить влияние хромосомных aberrаций у пациентов с ММ на формирование резистентности к противоопухолевой терапии и индивидуальные особенности течения заболевания.

Обследованию было подвергнуто 48 больных ММ с II-III стадиями заболевания. Соотношение мужчины/женщины — 1:1,1. Возраст больных — от 40 до 79 лет (медиана 66,3 года). Продолжительность течения заболевания от 6 до 86 месяцев. Первую группу составили 32 (66,7%) пациента, на момент обследования получившие от 2 до 4-х линий полихимиотерапии (ПХТ) (среднее количество курсов 12,3), вторую группу — 16 (33,3%) пациентов с терапией не более 1 линии (среднее количество курсов ПХТ 2,8). Всем было выполнено FISH исследование с целью обнаружения mSMART-критериев: del(13)(q14), del(17)(p13), t(8;14) и др. ХА. FISH-исследование клеток костного мозга выполняли в использовании ДНК-зондов: D13S25(13q14); IGH/MYC, CEP8; TP53(17p13.1) (Abbott).

ХА обнаружены у 10 (20,8%) больных из 1-й группы, с рецидивами и резистентным течением ММ: del(13)(q14) — 6 пациентов, del(17)(p13.1) — 1 пациент, ХА с вовлечением гена IGH(14q34) — 3 пациента. В 3 случаях выявлено сочетание t(8;14) с другими ХА: с del(13)(q14) — 2 случая, с del(17)(p13.1) — 1 случай. Из второй группы обследуемых, ХА были выявлены у двух больных — del(17)(p13.1), что позволило отнести их к группе высокого риска по неблагоприятному прогнозу заболевания и рекомендовать интенсификацию терапии.

FISH-анализ позволяет разделить больных с ММ на группы риска по прогрессии заболевания и возможной резистентности к цитостатической терапии.

Эпидемиологический анализ разнообразия моногенной наследственной патологии в популяциях Европейской части России

Зинченко Р.А.^{1,2}, Ельчинова Г.И.¹,
Петрин А.Н.^{3,4}, Гинтер Е.К.^{1,5}

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1, e-mail: repazinchenko@mail.ru

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

³ ФГУЗ «Научно-практический центр медицинской помощи детям ДЗМ», Москва, 119620, ул. Авиаторов, д. 38

⁴ ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» МЗРФ, Москва, 127473, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

⁵ ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» МЗРФ, 125993, Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1

Проведён анализ результатов генетико-эпидемиологических исследований моногенных наследственных болезней (МНБ) в 13 регионах европейской части РФ. Все исследования проведены в соответствии с протоколом, разработанным в ФГБНУ «МГНЦ». В анализ включены данные об эпидемиологии МНБ среди населения 7 этнических групп РФ, включая: русских Кировской, Костромской, Брянской, Ростовской, Архангельской, Тверской областей и Краснодарского края; удмуртов Республики Удмуртия, марийцев из Республики Марий Эл, чувашей из Республики Чувашия, адыгейцев из Республики Адыгеи, башкир из Республики Башкортостан, татар из Республики Татарстан. Численность обследованного населения превысила 3,200 млн чел. Суммарный нозологический спектр МНБ, выявленных в 12 регионах составил 539 нозологий (9061 больной): 252 с АД типом наследования, 226 с АР и 61 с Х-сц. Анализ сводного спектра МНБ определил 36 (19 с АД типом наследования, 12 с АР и 5 с Х-сц.) «частых» (чаще, чем 1 : 50 000) заболеваний. Именно эта группа включает максимальное количество больных — 61,47% (59,12% для АД, 64,77% для АР и 65,90% для Х-сц. патологии). Однако и «частые» заболевания обнаруживают значительную вариацию в частотах распространённости между регионами. В то же время, для каждого региона список частых МНБ значительно шире общего для всех регионов. Например, у башкир 49 «частых» МНБ, у удмуртов — 41, у марийцев — 36, у чувашей — 34.

шей — 38, у адыгейцев — 27. Вариация в структуре и распространённости отдельных МНБ наблюдается также в рамках одной этнической группы — русские отдельных регионов. Полученные данные важны для органов практического здравоохранения, так как позволяют оценить объём и направленность региональных профилактических программ.

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

Новые технологии анализа генома человека и диагностики наследственной патологии. Генетический анализ депрессии с помощью сканирования генома

Зоркольева И.В., Белоногова Н.М.

Новосибирск, 630090, ул. Лаврентьева 10, Институт цитологии и генетики СО РАН; zor@bionet.nsc.ru

Депрессия — психическое расстройство, с умеренно выраженным наследственным компонентом. Несмотря на широкую распространённость заболевания, исследование этой патологии по количеству полногеномных анализов значительно уступает исследованиям, посвящённым другим, менее частым, но более наследуемым психическим расстройствам (таким, как, например, шизофрения или аутизм).

Мы провели исследование нескольких количественных характеристик депрессии, применяя различные методы анализа геномных данных, позволяющие наиболее эффективно извлекать генетическую информацию. Материалом для анализа являлась большая родословная из изолированной популяции Голландии. Более двух тысяч человек из этой родословной были протестированы по шкалам Center Epidemiological Studies of USA (CES-D) и Hospital anxiety and depression (HADS-D).

Методы, которые были использованы в этом исследовании, включали в себя анализ ассоциаций для идентификации распространённых аллелей малого эффекта и анализ сцепления для идентификации редких вариантов, обладающих сильным эффектом на фенотип. Две панели из 6 тыс. и 650 тыс. SNP маркёров были использованы для анализа сцепления и ассоциаций соответственно. Дополнительно были применены две стратегии, которые позволяют идентифицировать локусы со смешанной аллельной архитектурой. Одна из них заключается в проведении анализа ассоциаций в регионе сцепления. Другая — в использовании информации о сцеплении для проведения процедуры «взвешивания» результатов анализа ассоциаций. В том и другом случае можно применять более слабые критерии значимости, что позволяет идентифицировать локусы, которые невозможно обнаружить только с помощью полногеномного анализа ассоциаций из-за связанной с ним проблемы множественного тестирования.

Кроме того, впервые в исследовании депрессии особое внимание было уделено корреляциям с антропометрическими данными. Анализ признаков, поправленных на статистически значимые антропометрические корреляции, позволил обнаружить новые кандидатные локусы.

В ходе нашего исследования были подтверждены сигналы ассоциации для уже известных генов, а также идентифицированы новые гены, роль которых в развитии депрессии ещё должна быть детально изучена.

Особенности кариотипа супругов с нарушениями репродукции

Зуб М.Г., Ким О.А., Сорокина Е.В.

МАУЗ «Центр вспомогательных репродуктивных технологий», 454031, г. Челябинск, ул. Сталеваров, д. 58-А; zub.marina@bk.ru

Цитогенетические и молекулярно-цитогенетические методы широко используются в современной репродуктивной медицине для анализа причин бесплодия. Известно, что численные хромосомные аномалии имеют высокую частоту в половых клетках, а также в клетках плода. Среди нарушений основная доля приходится на анеуплоидии.

Проведён анализ хромосомных аномалий у супружеских пар, обратившихся в МАУЗ «Центр ВРТ» в 2012–2014 гг. за медико-генетическим консультированием и определением тактики дальнейшего лечения нарушений репродуктивной функции. Среди 348 пациентов (174 супружеские пары) хромосомные нарушения выявлены у 3 мужчин и 4 женщин, что составило 2% пациентов. Среди всех хромосомных нарушений обнаружено: 4 случая транслокаций, из них — одна робертсоновская; 1 структурная перестройка X-хромосомы (изоX по длинному плечу); 2 случая инверсий (7-й и 10-й хромосом у женщин).

По данным различных авторов, доля мужского фактора в структуре бесплодия составляет 30–50%. Внедрение в широкую клиническую практику таких современных микроманипуляционных методик, как TESE и ИКСИ позволяет мужчинам с тяжёлыми формами патозооспермии, ранее обречённым на бесплодие, иметь потомство. Однако нарушения спермопродукции могут быть обусловлены геномными и сбалансированными хромосомными aberrациями. В нашей лаборатории было проведено исследование 74 кариотипов пациентов с патозооспермией. Выявлено: 1 пациент (1,4%) с нарушением числа половых хромосом (46,XXY); 1 пациент (1,4%) с робертсоновской транслокацией — 46,XY,t(13;14)(q10;q10); 2 пациента (2,8%) с делецией Y-хромосомы — 46,Xdel(Y)(q10); 1 пациент (1,4%) с дицентрической Y-хромосомой — 46,Xdic(Y)(q10). Совокупная частота хромосомных нарушений среди пациентов этой группы составила 7%.

Среди обследованных у 42 чел. (9%) были обнаружены хромосомные полиморфизмы. Присутствие хромосомных полиморфизмов в кариотипе расценивалось как вариант нормы. Тем не менее, патогенетическое значение их в формировании нарушений репродукции остаётся дискуссионным вопросом до настоящего времени.

Клинический вариант комплекса аномалий при частичной трисомии по короткому плечу хромосомы 9

Зубайдулина С.Р., Кадилова И.С., Донников М.Ю., Гильнич Н.А., Ложкин Д.А., Волюкова А.А., Иваненко В.В., Южакова А.Г., Колбасин Л.Н.

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

Пробанд — девочка 6 лет 5 мес., была направлена к врачу-генетику с предварительным диагнозом: резидуально-органическое поражение нервной системы, внутренняя гидроцефалия, аномалия Денди—Уокера; дизартрия сочетанного генеза. Жалобы на искривление позвоночника, недержание мочи.

Из анамнеза: больна с рождения, когда впервые появились жалобы на вывих тазобедренного сустава, искривление позвоночника. Ребёнок от I беременности, роды срочные, оперативные. При рождении вес 3580 г, длина 51 см, окружность головы 5 см, оценка по шкале Апгар 8—9 баллов. Развитие после года: задержка моторного развития. Самостоятельно ходит с 3,5 лет.

На момент осмотра врачом-генетиком масса тела 21,5 кг, рост 113 см, окружность грудной клетки 56 см, окружность головы 50 см.

Фенотип: череп нормальной формы и размеров, гипоплазия средней трети лица, гипотелоризм орбитальных областей, гиперметропию, низкопосаженные, диспластичные, оттопыренные ушные раковины, сколиоз, укорочение левой нижней

конечности на 1 см, стопы в вальгусном положении. Кариотип: 47,XX,+der(9)del(9)(q13). Выявлена дополнительная делетированная хромосома 9, частичная трисомия хромосомы 9. Кариотип родителей без хромосомной патологии. Проведено молекулярно-генетическое исследование методом MLPA на частые хромосомные микроделеции и анеуплоидии (набор «SALSA MLPA P245-B1 Microdeletion-1 probemix», MRC-Holland). Статистически значимых отклонений в коэффициенте дозирования (DQ) по сравнению с референсным образцом для исследуемых зондов не обнаружено.

Заключительный диагноз: Хромосомная патология, частичная трисомия хромосомы 9. Врожденная аномалия развития позвоночника. S-образный сколиоз. Врожденный вывих тазобедренного сустава слева. Компенсаторный перекос таза. Укорочение левой нижней конечности на 1 см. Резидуально-органическое поражение ЦНС. Внутренняя гидроцефалия. Аномалия Денди—Уокера. Дизартрия. Миотонический синдром. Адгезивная болезнь среднего уха двухсторонняя. Нейрогенный мочевого пузыря.

Девочка нуждается в регулярном наблюдении у специалистов с развитием множественных нарушений, в первую очередь — позвоночника.

По данным литературы (A.Schintel), возможны судорожные расстройства, наблюдающиеся у пациентов с врожденной гидроцефалией, что соответствует данному случаю.

Реконструкция гаплотипов хромосом с мажорными мутациями (p.W172C, IVS1+1G>A, c.235delC) гена *GJB2* у коренного населения Южной Сибири (тувинцев и алтайцев)

Зыцарь М.В.^{1,2}, Бады-Хоо М.С.^{1,3}, Михальская В.Ю.^{1,2}, Бондарь А.А.⁴, Морозов И.В.^{2,4}, Барашков Н.А.^{5,6}, Посух О.Л.^{1,2}

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

² ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, г.Новосибирск

³ ГБУЗ РТ «Перинатальный центр Республики Тыва», г.Кызыл

⁴ ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г.Новосибирск

⁵ ФГБНУ «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем», г.Якутск

⁶ Институт естественных наук, ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», г.Якутск

Различные регионы мира отличаются спецификой мутационного спектра гена *GJB2* (Cx26, 13q11-q12), мутации которого вносят наибольший вклад в этиологию наследственной потери слуха. Выявление наиболее часто встречающихся (мажорных) мутаций гена *GJB2* и оценка их частоты в популяциях различного этнического происхождения важно как для медико-генетических исследований, так и для реконструкции эволюционной истории этих популяций. Исследования в Туве и на Алтае показали, что мажорными для коренного населения этих регионов Южной Сибири (тувинцев и алтайцев) являются три рецессивные мутации гена *GJB2*: p.W172C, IVS1+1G>A и c.235delC. В предположении ключевой роли эффекта основателя в их распространении в изолированных, но территориально близких, популяциях тувинцев и алтайцев, была проведена реконструкция предковых гаплотипов, включающих эти мутации. Для реконструкции гаплотипов использовалась информативная панель из семи STR-маркёров, фланкирующих на разном расстоянии ген *GJB2*, и 12 SNP-маркёров, внутригенных и фланкирующих *GJB2*. Генотипирование маркёров проведено у индивидов, гомозиготных по мажорным *GJB2*-мутациям (n = 28), и в контрольных выборках тувинцев (n = 62) и алтайцев (n = 60), не имеющих эти мутации, что по-

зволило выявить разнообразие аллелей используемых генетических маркёров и определить специфические гаплотипы, включающие мажорные мутации гена *GJB2*, у тувинцев и алтайцев.

Работа выполнена при финансовой поддержке базового бюджетного проекта №VI.58.1.1., грантов РФФИ №14-04-90010_Бел, №15-04-04860 и экспедиционных грантов СО РАН.

Исследование ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов молекулярно-генетического рискометра ишемической болезни сердца (Celera, USA) с внезапной сердечной смертью

Иванова А.А.^{1,3}, Максимов В.Н.^{1,3}, Орлов П.С.^{1,2}, Савченко С.В.^{3,4}, Воевода М.И.^{1,2}

¹ ФГБУ «НИИ терапии и профилактической медицины» СО РАМН, 630089, г.Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1

² Институт Цитологии и Генетики СО РАН, 630090, г.Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10

³ ГОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», 630091, г.Новосибирск, Красный просп., 52

⁴ ГУЗ Новосибирское областное бюро судебно-медицинской экспертизы, г.Новосибирск, 630087, ул. Немировича-Данченко, 134; e-mail: ivanova_a_a@mail.ru

Цель работы — исследование связи однонуклеотидных полиморфизмов rs20455 гена *KIF6*, rs7439293 гена *PALLD*, rs2298566 гена *SNX19*, rs3900940 гена *MYH15*, rs1010 гена *VAMP8*, включенных в рискометр ишемической болезни сердца в исследовании корпорации Celera (США), с развитием внезапной сердечной смерти (ВСС).

В исследование включены группа лиц умерших ВСС, сформированная по критериям ВОЗ (n = 352, средний возраст 53,3 ± 8,9 года), контрольная группа подобранная по полу и возрасту из банка ДНК исследований HAPIEE, MONICA (n = 381, средний возраст 53,1 ± 8,3 года), группа подростков (n = 296, средний возраст 15,6 ± 0,9 года). ДНК выделена методом фенол-хлороформной экстракции из миокарда лиц, умерших ВСС, и венозной крови лиц, включенных в контрольные группы. Генотипирование выполнено методом Real-time PCR с использованием технологии TaqMan-зондов (Applied Biosystems, USA).

По частотам генотипов и аллелей полиморфизмов rs7439293 гена *PALLD*, rs2298566 гена *SNX19*, rs3900940 гена *MYH15* не было найдено статистически значимых различий между группами. В группе лиц старше 50 лет, умерших ВСС выявлено статистически значимое уменьшение доли носителей генотипа GG полиморфизма rs20455 (9,0%) по сравнению с контрольной группой (17,8%) (p = 0,009, ОШ = 0,46, 95%ДИ 0,26—0,81). В группе мужчин старше 50 лет, умерших внезапной сердечной смертью, найдено значимое уменьшение доли носителей генотипа CC (8,0%) (p = 0,002, ОШ = 0,328, 95%ДИ 0,159—0,678) и увеличение доли носителей генотипа CT (49,6%) (p = 0,025, ОШ = 1,729, 95%ДИ 1,084—2,758) полиморфизма rs1010 гена *VAMP8* по сравнению с контрольной группой (21,0%, 36,3% соответственно).

Работа поддержана грантом РФФИ №10-04-01448а.

Интересные случаи вариантов полиморфизма хромосом

Иванова А.С., Лапутин И.А.

БУЗОО «ОКБ», 644111, г.Омск, ул.Березовая, 3; alevtina_31@mail.ru

Всем известно, что хромосомам 1, 9, 16, акроцентрическим и Y-хромосоме характерны варианты полиморфизма гетеро-

хроматиновых районов. Однако и другим хромосомам свойственно наличие гетероморфизма и полиморфизма.

В практике цитогенетической лаборатории Омской МГК в последние 3—4 года было выявлено несколько семей с редкими вариантами полиморфизма хромосом. Диагноз нам помогли поставить метод С-окраски хромосомных препаратов и материал книги Herman E. Wyandt, Vijay S. Tonk «Human Chromosome Variation: Heteromorphism and Polymorphism».

Приводим примеры.

1. Семья с носительством увеличенного центромерного гетерохроматинового блока в коротком плече хромосомы 6. Пробанд женщина кариотип 46,XX,6cenh+, её дочь 46,XX,6cenh+, отец пробанда 46,XY,6cenh+.

2. Брат и сестра с увеличенным гетерохроматиновым блоком в коротком плече 17 хромосомы, родители не кариотипированы. Кариотипы брата и сестры: 46,XY,17cenh+ и 46,XX,17cenh+.

3. При обследовании супружеской пары по прогнозу потомства у мужчины выявлен увеличенный гетерохроматиновый блок в коротком плече хромосомы 18. Кариотип 46,XY,18cenh+.

4. При обследовании супружеской пары по прогнозу потомства у женщины выявлен увеличенный центромерный гетерохроматиновый блок в длинном плече хромосомы 19. Кариотип 46,XX,19cenh+.

Такие случаи подтверждают необходимость использования в практике цитогенетических лабораторий классических, не дорогостоящих методов.

Клинический случай синдрома CANDLE

Иванова И.А., Филиппова Т.В., Суховьева О.Г., Федоров Е.С., Савостьянов К.В., Пушков А.А.

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Минздрава России, Отделение медицинской генетики, Кафедра детских болезней, 119991, Москва, ул. Грушевая д. 8, стр. 2
iraivanova@list.ru

НИИ Ревматологии РАМН, 115522, Москва, Каширское ш., д. 34А
Лаборатория ФГБНУ НЦЗД, 119991, Москва, Ломоносовский просп., д.2, стр. 1

Хронический атипичный нейтрофильный дерматоз с липодистрофией и подъемами температуры (синдром CANDLE) — чрезвычайно редкий генетический аутовоспалительный синдром, входящий в группу протеасомных болезней. Синдром CANDLE — моногенное аутосомно-рецессивное наследственное заболевание, обусловленное мутацией гена *PSMB8*, кодирующего β5-субъединицу иммунопротеасомы. Ведущее звено патогенеза данного синдрома — гиперактивация системы ИЛ6 и γ-интерферона.

Клинический случай синдрома CANDLE у ребёнка двух лет и шести месяцев жизни. Заболевание манифестировало в возрасте 2 недель, когда возникла инфильтрация в области правой пятки и гиперемия в области II пальца правой стопы. С 2-месячного возраста появились атаки фебрильной лихорадки, нарастал кожный синдром (пятнисто-папулезная сыпь от ярко-красного до цианотичного цвета в области лица, туловища, кистей, стоп размером от 2 мм до горошины, отёк век и фиолетовая эритема над ними по типу «дерматомиозитных очков»). По мере прогрессирования болезни присоединились другие симптомы: задержка физического развития, дефицит массы тела, липодистрофия, наиболее выраженная в верхней половине тела, выступающий живот, преобладающий отёк пальцев, гепатоспленомегалия. В лабораторных анализах: повышение СОЭ, гипохромная анемия, тромбоцитопения, повышение уровня белков острой фазы. Пациентка неоднократно госпитализировалась по месту жительства с диагнозом «васкулит неуточнённый». Лечение практически не давало эффекта. В возрасте 2 года 6 мес. девочка госпитализирована в УДКБ Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, где врачом-генетиком был поставлен диагноз — синдром CANDLE

(OMIM: 256040). При молекулярно-генетическом исследовании выявлена мутация с.212С>Т гена *PSMB8* в гетерозиготном состоянии. С учётом поставленного диагноза было скорректировано лечение, давшее положительный эффект (за год девочка выросла на 4 см, лихорадки не было, практически купировался кожный синдром).

Регистр орфанных заболеваний в Республике Саха (Якутия)

Иванова Р.Н.^{1,2}, Сухомясова А.Л.^{1,2}, Гуринова Е.Е.^{1,2}, Николаева И.А.^{1,2}, Алексеева С.П.¹, Готовцева Л.В.^{1,2}, Ноговицына А.Н.^{1,2}

¹ ГБУ РС(Я) «Республиканской больницы №1 — Национального центра медицины», Якутск, Сергеляхское ш.4,
Ya.irm84@yandex.ru

² ФГУ Якутский научный центр КМП ФАНО, Якутск

К редким (орфанным) заболеваниям отнесены жизнеугрожающие или хронические прогрессирующие заболевания, при отсутствии лечения приводящие к смерти или пожизненной инвалидизации пациентов, 24 из которых включены в Федеральный регистр. Из МГК РС(Я) в региональный сегмент Федерального регистра включены 40 больных (из них детей — 19 чел.) по семи нозологиям.

Наибольшее количество больных с незавершённым остеогенезом (Q78.0) — 18, из них 7 — дети. Больные с тяжёлой формой заболевания получают лечение памидроновой кислотой с положительной динамикой — отсутствие переломов, улучшение двигательной активности.

В регистр включены 15 больных с фенилкетонурией (E70.0) — в возрасте от 1 года до 45 лет (7 детей, 8 взрослых). В МГК внедрён молекулярно-генетический анализ на частые мутации в гене *PAH*. Все больные обеспечиваются специализированным лечебным питанием. У всех выявленных по программе неонатального скрининга интеллект сохранен.

Дорогостоящее ферментозаместительное лечение получают 2 детей с мукополисахаридозом I типа (E76.0) — препарат Ларонидаза, а также 1 ребёнок с тирозинемией I типа (E70.2) — Нитизинон, смесь «Тирозидон». Тирозинемия I типа установлена в 8-месячном возрасте, обнаружена новая мутация в гене *FAH*. В этой семье при повторной беременности проведена пренатальная ДНК-диагностика в ранние сроки, роды здорового ребёнка (гетерозиготным носителем). В МГК с 2012 г. внедрены ДНК-диагностика, исследование АФП для дифференциальной диагностики и контроля.

Два сибса с нарушением обмена меди (болезнь Вильсона) (E83.0) получают лечение купренилом. С нарушением обмена жирных кислот — недостаточностью очень длинноцепочечной ацил-КоА дегидрогеназы (E71.3) наблюдается девочка 14 лет, получающая препарат Ликвиджен. На фоне лечения отсутствуют кризы с потерей сознания.

В 2014 г. впервые в Республике зарегистрирована болезнь Ниманна—Пика типа С из группы сфинголипидозов (E75.2) у ребёнка 3 лет, у которого в периоде новорождённости была затянута желтуха, увеличение печени и селезёнки. Для начала субстратредуцирующей терапии закуплен препарат Миглустат.

Таким образом, своевременная диагностика, лечение, позволяют улучшать качество жизни больных с редкими заболеваниями и предотвратить жизнеугрожающие состояния.

Генотипы *KITLG*, *SPRY4* и *BAK1*, определяющие повышение риска развития герминогенных опухолей яичка у пациентов с бесплодием, обусловленным делецией *AZF*

Ивкин Е.В.¹, Михайленко Д.С.², Черных В.Б.², Руденко В.В.², Симонова О. А.², Немцова М.В.¹

¹ ГОУ ДПО РМАПО Минздрава России, 1
25993. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1
e.ivkin@hotmail.com

² ФГБНУ «МГНЦ» 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1

Герминогенная опухоль яичка (ГОЯ) является мультифакторальным заболеванием с выраженным наследственным компонентом. Благодаря полногеномным исследованиям, удалось идентифицировать гены *KITLG*, *SPRY4* и *BAK1*, которые контролируют дифференцировку и миграцию эмбриональных половых клеток и участвуют в нормальном развитии ткани яичек и сперматогенезе. Однонуклеотидные замены в ДНК генов оказывают влияние на эти процессы, приводя к их нарушению, и определяют генетическую предрасположенность к развитию ГОЯ.

Цель: определение аллелей и генотипов высокого риска у пациентов с бесплодием для формирования группы риска развития ГОЯ для клинического мониторинга.

Исследование генотипов высокого риска генов *SPRY4* (rs4624820, rs6897876), *KITLG* (rs995030, rs1508595) и *BAK1* (rs210138) у 77 фертильных мужчин в возрасте 25–45 лет и 71 пациента с клиническим бесплодием, генетически обусловленным делецией AZF, проводили методом ПЦР-ПДРФ. Делеция AZF подтверждена молекулярными методами.

Гены	<i>SPRY4</i>		<i>KITLG</i>		<i>BAK1</i>	
SNPs	rs4624820	rs6897876	rs995030	rs1508595	rs210138	
Генотипы риска	AA	CC	GG	GG	GG	AG
Норма (77)	24/0,31	28/0,36	45/0,58	29/0,377	0/0	24/0,31
AZF (71)	19/0,27	21/0,30	46/0,65	35/0,49	0/0	30/0,42

Сочетание генотипов высокого риска по всем трем генам выявлено у 4/80 нормальных фертильных мужчин, 10/71 пациентов с бесплодием, обусловленным делецией AZF. Нам не удалось выявить достоверного повышения частоты генотипов высокого риска или их сочетания у пациентов с бесплодием по сравнению с фертильными мужчинами.

Пациенты с бесплодием, имеющие сочетание генотипов высокого риска по генам *KITLG*, *SPRY4* и *BAK1*, имеют повышенный риск развития ГОЯ, что должно учитываться при их консультировании и дальнейшем обследовании. Генотипирование пациентов из клинических групп высокого риска (бесплодие, наличие крипторхизма и тестикулярного микролитиаза) может являться дополнительным фактором индивидуального прогноза для пациента.

Ассоциации гена цитохрома P450 *CYP1A1* у больных с алкогольным циррозом печени

Идиятуллина Э.Т., Калимуллина Д.Х., Викторова Т.В., Саитова Л.Ф., Гусманова Г.Т., Бакиров А.Б., Габдрахимова З.Г.

Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова, Уфа, Россия;
Idiyatullina.elina@gmail.com

Система цитохрома важна при изучении алкогользависимых заболеваний человека. Активация ферментов семейства цитохромов P-450 стимулирует развитие окислительного стресса, что приводит к усилению синтеза в печени провоспалительных цитокинов с последующим развитием фиброза (Г.Д. Фадеев, 2005; Bataller R., North K.E., 2010).

Исследовали 40 больных алкогольным циррозом печени. При изучении полиморфизма 2455A>G гена *CYP1A1* у больных алкогольным циррозом печени установлено, что частота гомозигот по нормальному аллелю (Ple462Ile) у больных составила 86,7%; в контроле — 96,03%. Установлена тенденция к увели-

чению доли гетерозиготных носителей мутации гена *CYP1A1*: мутация Ple462Val встречалась чаще — 4 случая из 14 (13,3%), что превышает аналогичный показатель в контрольной группе более чем в 3 раза — 4 случая из 101 (3,97%; $\chi^2 = 2,1$; $p = 0,15$; OR = 3,73 (95%ДИ 0,72–19,41)).

У больных с мутацией Ple462Val гена цитохрома P450 *CYP1A1* выявлено статистически значимое превышение уровня как общей ($104,51 \pm 26,38$ мкмоль/л и $232,8 \pm 54,92$ мкмоль/л; $p < 0,05$), так и прямой ($48,48 \pm 19,88$ мкмоль/л и $148,0 \pm 22,22$ мкмоль/л) фракций билирубина, а также ГГТ ($145,89 \pm 64,34$ ед. и $334,33 \pm 36,41$ ед.). Уровень АЛТ был в среднем выше нормы и у больных без мутации Ple462Val. Уровень АСТ был выше нормы в обеих группах. Уровень ЩФ превышал норму у больных без мутации. Установлено, что у пациентов с мутацией Ple462Val чаще наблюдалось увеличение общей и прямой фракций билирубина (у 4 из 4 пациентов), чем в группе без мутации (у 6 из 26); $\chi^2 = 6,09$; $p = 0,0142$; OR = 14,53 (95%ДИ 2,78–75,98). Также статистически значимо чаще выявлено превышение нормы по ГГТ: при мутации Ple462Val у 4 из 4 пациентов, без мутации (у 7 из 26); $\chi^2 = 5,14$; $p = 0,024$; OR = 12,01 (95% ДИ 2,32–62,06).

Таким образом, можно утверждать, что при циррозе печени алкогольной природы у пациентов с мутацией Ple462Val гена цитохрома P450 *CYP1A1* нарушения детоксикационной функции печени происходят статистически значимо чаще, чем у лиц без мутации.

Экогенетические эффекты воздействия радиации на человека

Ижевский П.В.

ГНЦ Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России,
123182, Москва, ул. Живописная, 46
izhevski@rambler.ru

Геном человека постоянно подвергается атакам различных мутагенов окружающей среды, от воздействия которых на популяционном уровне выявляются два типа стохастических эффектов:

1) изменение степени выраженности фенотипического проявления действия аллелей при влиянии на организм специфических (для данных аллелей) факторов;

2) изменение частоты аллелей, в том числе мутаций *de novo*, в популяциях.

Первый тип эффектов у человека проявляется в виде *экогенетических реакций*, вплоть до болезней. Второй — как процессы индуцированного мутагенеза и отбора ведущие к повышению темпов наследственной изменчивости. Традиционно допустимые уровни и концентрации воздействия мутагенов устанавливаются исходя из недопущения острых, токсических эффектов, но не учитывают возможность отдаленных последствий у экспонированных в малых дозах лиц. Поскольку в настоящее время по суммарной мощности ядерной энергетика России входит в пятерку наиболее развитых стран мира, а к 2020 г. планируется производить на АЭС до трети всей электроэнергии в стране, требуется количественно оценить риск таких последствий и разработать меры по их профилактике.

Цель — определение дозы внешнего облучения удваивающей частоту случаев неблагоприятных исходов беременности (НИБ) в семьях экспонированных лиц и разработка мер профилактики отдаленных последствий облучения.

На основании данных об исходах беременностей и состоянии здоровья потомства в популяциях подвергавшихся воздействию радиации, определены:

1. Частоты НИБ в 226 популяциях подвергшихся радиационному воздействию после аварии на Чернобыльской АЭС. Дополнительные к естественному фону расчетные дозы облучения за первые шесть лет после аварии составили от 4 до 152 мЗв;

2. Доза облучения, удваивающая частоту случаев НИБ у 1-го поколения потомков экспонированных лиц;

3. Частота врождённых аномалий среди новорождённых среди населения и в семьях персонала промышленных предприятий постоянно контактирующего с мутагенами;

4. Предлагается комплекс мер по профилактике НИБ в семьях персонала постоянно контактирующих с мутагенами, а также населения проживающего вблизи промышленных предприятий — источников мутагенов.

Полноэкзомное секвенирование в семьях с наследственной спастической параплегией

Иллариошкин С.Н.¹, Абрамычева Н.Ю.¹, Федотова Е.Ю.¹, Ключников С.А.¹, Дорогов В.Н.¹, Айвазян С.О.³, Степанова М.С.¹, Благодарских К.А.²

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

² ЗАО «Синтол», 127550, Москва, Тимирязевская ул., д. 42

³ ЗАО «Невромед-Клиника», 115419, Москва, ул. Шаболовка, д. 34

В последние годы на смену традиционным молекулярно-генетическим подходам приходят методы высокопроизводительного секвенирования нового поколения, которые позволяют быстро и с меньшими затратами диагностировать генетический дефект в отягощённых семьях. Экзомное секвенирование может наиболее успешно применяться при заболеваниях, характеризующихся значительной генетической гетерогенностью при относительно сходных фенотипических проявлениях. К подобным заболеваниям относятся наследственные спастические параплегии (НСП).

Обследованы пациенты из двух семей с клинической картиной нижней спастической параплегии. В семье Д. наблюда-

лось аутосомно-доминантное наследование с прослеживанием фенотипа НСП в четырех поколениях и дебютом заболевания в возрасте 35—50 лет. Клинически были подробно обследованы 9 родственников из данной семьи, в том числе 5 больных. В семье В. наблюдался ребёнок 4 лет мужского пола с отставанием в психомоторном развитии и нижним спастическим паразетозом, на МРТ головного мозга отмечались признаки перивентрикулярной лейкопатии. Полноэкзомное секвенирование осуществлялось на анализаторе Illumina MiSeq с помощью набора Illumina TruSight. Обработка данных состояла в получении последовательностей прочтений и определении их отличий от референсной последовательности генома человека с привлечением облачной платформы BaseSpace. Для верификации найденных мутаций у других членов семьи применялся метод капиллярного секвенирования.

В результате проведённого секвенирования у пробанда из семьи Д. была выявлена патогенная мутация T509P в гетерозиготном состоянии в 15-м экзоне гена *SPAST* (2p24-p21), соответствующая НСП типа 4 (SPG4). Обследованы остальные 8 членов семьи, у четырёх была обнаружена аналогичная мутация, соответствовавшая клинической картине заболевания. У ребёнка из семьи В. была выявлена патогенная мутация g.53619480T>TGCCGCC в гомозиготном состоянии в гене *DDHD1* (14q22.1), соответствующая НСП типа 28 (SPG28) с ранним дебютом заболевания. Во всех случаях патогенность мутаций была установлена согласно OMIM, SIFT и PolyPhen2.

Проведённая работа продемонстрировала эффективность применения клинического экзомного секвенирования нового поколения для диагностики наследственных неврологических заболеваний в столь высокогетерогенной генетической группе, как НСП.

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