

Раздел 8

ПРЕНАТАЛЬНАЯ И ПРЕИМПЛАНТАЦИОННАЯ ДИАГНОСТИКА. ГЕНЕТИКА РЕПРОДУКЦИИ

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЦИТОГЕНЕТИКА ТРОФОБЛАСТА И ВНУТРЕННЕЙ КЛЕТОЧНОЙ МАССЫ НА ОСНОВЕ ДАННЫХ МОЛЕКУЛЯРНОГО КАРИОТИПИРОВАНИЯ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК В ПОЛОСТИ БЛАСТОЦИСТЫ

Д.И. Жигалина¹, Н.А. Скрябин², О.Р. Канбекова³, И.А. Степанов³,
В.Г. Артюхова⁴, А.В. Светлаков⁴, И.Н. Лебедев²

¹ Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск

² НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

³ Томский областной перинатальный центр, г. Томск

⁴ Красноярский центр репродуктивной медицины, г. Красноярск

В последние два десятилетия в связи с активным развитием методов преимплантационной генетической диагностики (ПГД) и преимплантационного генетического скрининга (ПГС) появилась возможность изучить генетические механизмы развития эмбриона человека на самых ранних этапах [1]. В 2013 г. было показано наличие внеклеточной ДНК (внДНК) во внутриполостной жидкости бластоцисты [2]. Хотя известно, что источником внДНК являются клетки эмбриона, до сих пор однозначно не установлено, является ли молекулярный кариотип внДНК из полости бластоцисты интегральным кариотипом погибших клеток либо отражает в большей степени кариотипы клеток одной из тканей [3]. Сравнение молекулярных кариотипов внеклеточной ДНК (внДНК) из внутриполостной жидкости человека и клеток эмбриобласта (ЭБ) и трофэктодермы (ТЭ) дает уникальную возможность для понимания цитогенетических механизмов формирования постзиготических митотических анеуплоидий. Кроме того, он дает возможность оценить диагностическую значимость внДНК как дополнительного источника информации об эмбриональном кариотипе. **Целью настоящей работы** явилось проведение сравнительного молекулярно-цитогенетического анализа эмбриобласта, трофэктодермы и ДНК из внутриполостной жидкости бластоцисты.

Материалы и методы

В настоящем исследовании проанализировано 29 бластоцист человека 5-х сут развития, которые были получены после подписания информированного согласия от пациентов Томского областного перинатального центра и Красноярского центра репродуктивной медицины. Для каждой бластоцисты проводилась аспирация внутриполостной жидкости. Забранная жидкость переносилась в стерильную микропробирку, содержащую 2,5 мкл раствора PBS (Qiagen, США), и замораживалась при температуре -20°C . Затем проводилось разделение ЭБ и ТЭ бластоцисты. Для всех образцов были проведены лизис клеток и полногеномная амплификация (ПГА). ДНК из клеток ЭБ, ТЭ и из полости 15 бластоцист была амплифицирована набором Rubicon PicoPlex (Rubicon Genomics, США), 14 бластоцист – набором

REPLI-g MiniKit #150023 (Qiagen, США). Для 15 эмбрионов был проведен анализ с помощью метода aCGH (arrayCGH), 14 бластоцист были проанализированы методом CGH на метафазных пластинках. Для этой цели были использованы микрочипы SurePrint G3 Human CGH Microarrays 8×60K (Agilent Technologies, США).

Результаты и обсуждение

ДНК из внутриполостной жидкости была успешно амплифицирована в 86,2% (25/29) образцов. По результатам анализа ТЭ в 31% (9/29) случаев бластоцисты оказались эуплоидными. При этом молекулярное кариотипирование ЭБ и внДНК не выявило анеуплоидий у 36% (10/28) и 28% (7/25) эмбрионов соответственно. У 7 бластоцист в ЭБ и ТЭ отсутствовали хромосомные aberrации, и лишь 3 эмбриона из 29 имели нормальный кариотип по результатам анализа всех трех образцов. Полное совпадение кариотипов было зафиксировано только для эуплоидных бластоцист. При наличии во внутриполостной жидкости и тканях хромосомных aberrаций нами было отмечено лишь частичное совпадение кариотипов либо их полное несоответствие. Таким образом, за исключением эуплоидных образцов и образцов, для которых не было получено продукта ПГА, при сравнении кариотипов внДНК/ЭБ частичное совпадение было выявлено в 3 случаях (3/21), для внДНК/ТЭ – в 6 случаях (6/22), а для ЭБ /ТЭ – в 8 случаях (8/22). По спектру хромосом наибольшее совпадение хромосом, вовлеченных в анеуплоидию, было выявлено при сравнении молекулярных кариотипов ЭБ и ТЭ (21 совпадение). Сравнение кариотипов внДНК/ЭБ и внДНК/ТЭ продемонстрировало совпадение по 19 и 16 хромосомам соответственно.

Всего было выявлено 175 анеуплоидий. Трисомии, моносомии, частичные три- и моносомии встречались с частотой 47,4; 46,9; 5,1 и 0,5% соответственно. Во внДНК зарегистрировано 67 (34,2%) анеуплоидий, в ЭБ – 68 (34,7%) и в ТЭ – 61 (31,1%). Было отмечено преобладание трисомий в ЭБ (40 : 28), в то время как во внутриполостной жидкости и трофэктодерме соотношение трисомий и моносомий было близко к единице (32 : 35 и 31 : 30 соответственно). Хромосомный мозаицизм, а именно

наличие двух и более анеуплоидий, был зафиксирован в тканях 14 бластоцист (48,2%). Наличие одной и той же анеуплоидии в ЭБ и ТЭ может указывать на ее мейотическое происхождение. Всего в данной работе у 6 бластоцист (21%) было выявлено 9 таких случаев.

Нами был обнаружено присутствие у эмбрионов на стадии бластоцисты клеточных клонов с трисомией и с моносомией по одной и той же паре гомологичных хромосом – реципрокных анеуплоидий (РА). Они были выявлены у 13 из 29 обследованных бластоцист (44,8%). Всего было зафиксировано 25 реципрокных числовых хромосомных аномалий. Таким образом, 50 анеуплоидий из 175 (28,5%) были представлены РА. Сравнительный анализ только ЭБ и ТЭ позволил выявить 36% (9/25) РА. При сравнении вДНК и ЭБ данный показатель составил 60% (15/25), а при анализе вДНК и ТЭ – 32% (8/25). Таким образом, использование вДНК в качестве источника дополнительной информации о хромосомной конституции эмбриона позволило на 64% повысить вероятность выявления реципрокных анеуплоидий по сравнению с анализом только ЭБ и ТЭ.

Заключение

Внеклеточная ДНК из внутриматочной жидкости бластоцист человека может быть успешно амплифицирована и проанализирована современными молекулярно-цитогенетическими методами. Результаты сравнительного молекулярно-цитогенетического анализа вДНК, клеток эмбриобласта и трофэктодермы свидетельствуют о недооцененности часто-

ты анеуплоидных и мозаичных бластоцист, а также позволяют наиболее эффективно выявлять реципрокные анеуплоидии, являющиеся результатом постзиготических ошибок сегрегации хромосом. Кариотипы эмбриобласта и трофэктодермы не являются абсолютно идентичными, что не позволяет экстраполировать результаты ПГС биопсированных клеток трофэктодермы на клетки внутренней клеточной массы, из которой развивается эмбрион. Очевидно, что в такой ситуации вДНК можно рассматривать как ценный дополнительный источник информации о кариотипе эмбриона при проведении преимплантационного генетического скрининга.

Работа выполнена на базе Центра коллективного пользования «Медицинская геномика» (НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, г. Томск) с использованием материалов биологической коллекции «Биобанк населения Северной Евразии» (№ 0550-2017-0019).

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 15-04-08265.

Литература

1. Handyside A.H., Kontogianni E.H., Hardy K., Winston R.M.L. Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y specific DNA amplification // Nature. 1990. V. 344, № 6268. P. 768–770.
2. Palini S., Galluzzi L., DeStefani S. et al. Genomic DNA in human blastocoele fluid // Reprod. Biomed. Online. 2013. V. 26, № 6. P. 603–610.
3. Mantikou E., Wong K.M., Repping S., Mastenbroek S. Molecular origin of mitotic aneuploidies in preimplantation embryos // Biochim. Biophys. Acta. 2012. V. 1822. P. 1921–1930.

КЛИНИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ТРЕХЛЕТНЕГО ОПЫТА ПРОВЕДЕНИЯ НЕИНВАЗИВНОЙ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ХРОМОСОМНОЙ ПАТОЛОГИИ ПЛОДА ПО ТЕХНОЛОГИИ PRENETIX (HARMONY)

О.Л. Кардымон, Е.А. Померанцева, Н.В. Ветрова, В.В. Шахтарин, А.А. Исаев

Центр генетики и репродуктивной медицины «ГЕНЕТИКО», г. Москва

Обнаружение внеклеточной ДНК плода в крови матери и последующее развитие технологий, позволяющих детектировать хромосомные патологии неинвазивно, привели к появлению и распространению нового метода скрининга – неинвазивного пренатального теста (НИПТ). Исследования, проводимые во всем мире, показали высокую точность и эффективность данного подхода в обнаружении наиболее частых анеуплоидий плода (синдромов Дауна, Эдвардса, Патау, Тернера) [1–5]. Вместе с тем информация о клинических результатах данных методов в России представлена недостаточно, что затрудняет внедрение НИПТ в практику пренатальной диагностики.

В настоящем сообщении представлены результаты НИПТ, выполненного по технологии Prenetix (Harmony, Roche) в период с 2014 по 2016 г. В основу теста Prenetix положена технология таргетного массового параллельного секвенирования (T-MPS). T-MPS подразумевает секвенирование не всей геномной ДНК, а только ее отдельных наиболее

стабильных и специфических протяженностей на каждой из хромосом. С 2015 г. данная технология получила свое развитие и была реализована в виде микрочипа с олигонуклеотидными последовательностями для гибридизации исследуемых участков [6]. Это позволило сократить срок выполнения исследования и повысить его точность. Другим преимуществом методики является метод расчета риска хромосомной патологии, который включает не только количественную оценку прочтений по каждой хромосоме, но и соотношение фракции фетальной ДНК к общему количеству внеклеточной ДНК в образце, возраст матери, срок гестации, количество плодов и другие показатели.

Всего обследованы 3 250 беременных женщин, подавляющее большинство из которых были отнесены к группе риска по критериям программы Astraia. На настоящее время у 2 020 женщин беременность завершена, что позволяет оценивать чувствительность метода. Полученные результаты исследования представлены в таблице.

Результаты неинвазивного пренатального теста, выполненного по технологии Prenetix

Синдром	Риск > 99%	Риск 1–99%	Всего анеуплоидий	Подтверждено	Не подтвержден	Результат не известен
Синдром Дауна	45	–	45	40	–	5
Синдром Эдвардса	7	1	8	8	–	–
Синдром Патау	1	1	2	2	–	–
Синдром Тернера	3	4	7	2	2	3
Синдром Клайнфельтера	4	7	11	6	2	3
Трисомия X	1	1	2	2	–	–
Дисомия Y	1	–	1	–	–	1
Синдромы Эдвардса + Клайнфельтера	–	1	1	–	–	1
ВСЕГО	62	15	77	60	4	13

Поскольку исследование Prenetix дает индивидуальные параметры рисков в отношении детектируемых хромосомных анеуплоидий, выявленная патология представлена по двум группам: первая – вероятность выше 99%, вторая – вероятность от 1 до 99%. Как видно из таблицы, основная хромосомная патология – синдром Дауна, далее по частоте встречаемости – синдромы Клайнфельтера, Эдвардса, Тернера, затем анеуплоидии по половым хромосомам. Следует отметить, что патология по аутосомам практически всегда определялась с вероятностью свыше 99%. Вероятность патологии по половым хромосомам чаще определялась с вероятностью ниже 99%.

В одном случае с беременностью двойней (дихориальная диамниотическая двойня) был диагностирован синдром Дауна, который подтвержден цитогенетическим кариотипированием одного из плодов. Ложноположительные результаты наблюдались у 4 женщин. Все эти случаи относятся к анализу половых хромосом. В одном случае, при хромосомной патологии по Prenetix – синдром Тернера, в результате кариотипирования был диагностирован мозаичный кариотип типа: 20% 47XXX; 10% 45X0, 70% 46XX. Анализ результатов теста в группе женщин с завершёнными беременностями свидетельствует об отсутствии пропущенных случаев хромосом-

ной патологии у новорожденных, что соответствует 100%-й чувствительности метода.

Литература

1. Norton M.E., Brar H., Weiss J. et al. Non-Invasive Chromosomal Evaluation (NICE) Study: results of a multicenter prospective cohort study for detection of fetal trisomy 21 and trisomy 18 // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2012. V. 207. P. 137. e1–8.
2. Nicolaides K.H., Syngelaki A., Ashoor G. et al. Noninvasive prenatal testing for fetal trisomies in a routinely screened first-trimester population // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2012. V. 207. P. 374.
3. Stokowski R., Wang E., White K. et al. Clinical performance of non-invasive prenatal testing (NIPT) using targeted cell-free DNA analysis in maternal plasma with microarrays or next generation sequencing (NGS) is consistent across multiple controlled clinical studies // *Prenatal Diagnosis.* 2015. V. 35 (12). P. 1243–1246.
4. Ashoor G., Syngelaki A., Wagner M. et al. Chromosome-selective sequencing of maternal plasma cell-free DNA for first-trimester detection of trisomy 21 and trisomy 18 // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2012. V. 206 (4). P. 322. e1–5.
5. Hooks J., Wolfberg A.J., Wang E.T. et al. Non-invasive risk assessment of fetal sex chromosome aneuploidy through directed analysis and incorporation of fetal fraction // *Prenatal. Diagn.* 2014. V. 34. P. 496–499.
6. Juneau K., Bogard P.E., Huang S. et al. Microarray-Based Cell-Free DNA Analysis Improves Noninvasive Prenatal Testing // *Fetal Diagn. Ther.* 2014. V. 36. P. 282–286.

РЕЗУЛЬТАТЫ РЕАЛИЗАЦИИ МЕРОПРИЯТИЙ ПО ПРЕНАТАЛЬНОЙ (ДОРОДОВОЙ) ДИАГНОСТИКЕ НАРУШЕНИЙ РАЗВИТИЯ РЕБЕНКА В ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ

М.П. Корф¹, Г.Н. Сеитова¹, С.Л. Вовк¹, Л.П. Назаренко^{1,2},
М.О. Филиппова^{1,2}, О.С. Заюкова¹, Н.Л. Пурьскина¹, Л.И. Диденко^{1,2},
О.Б. Луканина¹, Н.Б. Торхова¹, Ю.С. Яковлева^{1,2}, Н.Н. Суханова¹

¹ НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

² Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск

Пренатальная диагностика объединяет в себе комплекс мероприятий, направленных на своевременное выявление врожденных и наследственных заболеваний у плода. В Томской области пренатальный (дородовой) скрининг (ПС) проводится с ноября 2010 г. Особое значение придается скринингу 1-го триместра, так как комплексный расчет риска позволяет заподозрить более 90% случаев хромосомных нарушений у плода. Кроме того, УЗИ плода позволяет выявить грубые аномалии разви-

тия ребенка, в подавляющем большинстве случаев являющихся летальными или приводящими к инвалидизации.

Согласно нормативным документам, утвержденным на территории Российской Федерации, скрининг проводится в условиях кабинетов экспертного уровня, где выполняется ультразвуковое исследование в сроки беременности 11–14 нед (оптимальный срок 11–13 нед). УЗИ проводится врачами, прошедшими специальную подготовку и получившими

допуск к проведению ультразвуковых исследований в 1-м триместре беременности и ежегодно подтверждающими свою компетенцию (особенно приветствуется наличие, как и на других территориях РФ, международного сертификата FMF, утвержденного федеральным отраслевым министерством). Для проведения биохимического скрининга 1-го триместра (РААР-А и β -ХГЧ) используются автоматизированные системы с программным обеспечением для пренатального скрининга, т.е. биохимические анализаторы для определения материнских сывороточных маркеров плазменного альбумина, ассоциированного с беременностью, и свободной бета-единицы хорионического гонадотропина человеческого с компьютерной программой, рассчитывающей индивидуальный риск хромосомных аномалий и учитывающей ультразвуковые и биохимические маркеры. Кроме того, при комбинированном расчете риска обязательно принимаются во внимание такие показатели, как возраст, вес, этническая принадлежность, наличие хронических заболеваний у женщины, наличие или отсутствие вредных привычек, проведение прегравидарной подготовки и др. Однако комплекс проводимых мероприятий в первом триместре не всегда позволяет поставить диагноз. В ряде случаев он лишь с той или иной степенью вероятности позволяет выявить женщин с высоким или низким риском патологии у плода. Для подтверждения диагноза в этом случае требуются дополнительные методы исследования, в том числе проведение инвазивной пренатальной диагностики с последующим применением специфических генетических лабораторных методов (цитогенетических, молекулярно-генетических и др.).

Успешная реализация программы ПС беременных в 1-м триместре возможна при соблюдении следующих организационных мероприятий:

- раннее обращение беременной в женскую консультацию;
- строгое соблюдение врачами женских консультаций сроков направления пациенток на комплексное обследование экспертного уровня;
- жесткий контроль уровня профессиональной компетентности врачей, выполняющих УЗ исследования на ранних сроках гестации;
- общее повышение грамотности врачей других специальностей и населения области в отношении важности осуществления ПС.

Проведенный анализ результатов ПС беременных 1-го триместра в Томской области за 6 лет (2011–2016 гг.) позволяет констатировать, что благодаря совместной работе НИИ медицинской генетики, Департамента здравоохранения Томской области с областными и городскими лечебными учреждениями стало возможным увеличение доли беременных, своевременно вставших на учет в женские консультации, что позволило провести ПС в оптимальные для этого сроки. Если в 2011 г. процент беременных женщин, вставших на учет в женские консультации на сроке до 14 нед, составлял 73,4%, то в 2016 г. – уже 84,4%.

По результатам ПС 1-го триместра у части беременных потребовалось проведение уточняющей диагностики (экспертного УЗИ и инвазивной ПД). В таблице представлены анализ проведенных инвазивных процедур беременным в группе высокого риска по хромосомной патологии у плода (1 : 100), количества выявленном хромосомных нарушений и диагностированных пороков развития у плода.

Показатели выявленных нарушений развития ребенка в Томской области

Показатели	Год					
	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Количество проведенных инвазивных процедур у беременных с риском 1 : 100	119	183	138	139	156	125
Количество выявленной хромосомной патологии	34	64	37	28	40	28
Выявлено нарушений развития ребенка с анатомическими дефектами, всего	197	275	228	252	224	213
Из них в первом триместре	55	38	20	54	25	26

Отмечается достаточно стабильный уровень выявляемой хромосомной патологии у плода (в разные годы от 20,2 до 34,9%). При этом подавляющее большинство составляют случаи количественных хромосомных нарушений (синдром Дауна, синдром Эдвардса и др.). Частота выявленных в 1-м триместре ВПР у плода колеблется от 8,8 до 27,9%.

Следует отметить, что, несмотря на высокий уровень выявляемости отклонений в развитии ребенка уже на раннем сроке беременности, сохраняются случаи рождения больных детей. В последние годы все чаще врачи стали сталкиваться с тем, что беременные при своевременной постановке на учет в женские консультации отказываются проходить

пренатальный скрининг. Также с каждым годом отмечается повышение тенденции пролонгировать беременность с установленной тяжелой патологией у плода (например, синдром Эдвардса, анэнцефалия и др.).

Тем не менее организация и контроль такого важного метода обследования, как пренатальный скрининг, снижают вероятность рождения детей с наследственной и врожденной патологией, что, соответственно, снижает показатели младенческой смертности за счет ВПР и наследственных заболеваний, а также затраты бюджета на содержание и лечение детей с тяжелыми инвалидизирующими генетически обусловленными заболеваниями.

СОСТОЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ХРОМОСОМНОЙ ПАТОЛОГИИ В ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ (ПО ДАННЫМ ОБЛАСТНОГО ПЕРИНАТАЛЬНОГО ЦЕНТРА)

В.В. Михальчук¹, Н.С. Созонова², А.Л. Чернова²

¹ Перинатальный центр, г. Тюмень

² Тюменский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Тюмень

Пренатальное (дородовое) обследование направлено на предупреждение и раннее выявление врожденной и наследственной патологии у плода. К основным методам пренатальной диагностики относятся:

- определение сывороточных маркеров крови матери;
- ультразвуковое исследование;
- инвазивная диагностика (амниоцентез, биопсия ворсин хориона и плаценты, исследование крови и кожи плода с определением кариотипа).

В целях повышения эффективности дородовой диагностики и предупреждения рождения детей с тяжелыми формами наследственных и врожденных болезней, приказом МЗ РФ от 28.12.2000 г. № 457, приложение 2.2.4 в Тюменской области предусматривается алгоритм скрининга беременных, измененный в 2012 г. (приказ № 572): инвазивная диагностика по расчетам программы Astraia проводится у беременных с риском хромосомной патологии 1 на 100 [1]. Основные результаты реализации мероприятий по пренатальной диагностике в Тюменской области за 2014–2016 гг. представлены в таблице.

Реализация мероприятий по пренатальной диагностике за 2014–2016 гг. в Тюменской области по результатам акушерско-гинекологической программы Astraia

№	Показатель	2014 г.	2015 г.	2016 г.
1	Взято женщин на учет по беременности в женской консультации, всего	25 189	24 754	22 565
	из них в сроке до 14 нед	20 896	21 205	19 389
2	Число женщин, прошедших обследование по пренатальной (дородовой) диагностике нарушений развития ребенка на экспертном уровне в сроке 11–14 нед, всего	17 619 (84%)	19 157 (90%)	17 350 (89,5%)
3	Число женщин, не прошедших обследование по пренатальной (дородовой) диагностике нарушений развития ребенка на экспертном уровне в сроке 11–14 нед, всего из них: из-за позднего (позже 14 нед) обращения в женскую консультацию из-за отказа от обследования на экспертном уровне другие причины	7 395	5 597	5 215
		4 269	3 549	2 039
		327	155	114
		3 116	1 893	3 062
4	Число беременных, отнесенных к группе высокого риска по хромосомной патологии у плода по данным пренатальной (дородовой) диагностики нарушений развития ребенка на экспертном уровне в сроке 11–14 нед, всего из них: по результатам УЗИ по материнским сывороточным маркерам (РАРР-А, ХГЧ) по сочетанным маркерам (УЗИ, РАРР-А, ХГЧ)	327	331	391
		37	50	70
		225	148	192
		65	133	129
5	Число беременных группы высокого риска по хромосомной патологии у плода, направленных на пренатальную диагностику, всего из них: число прошедших инвазивное обследование число отказавшихся от инвазивного обследования число ожидающих инвазивное обследование на момент отчета	323	326	387
		175	163	215
		148	163	172
		–	–	–
6	Количество проведенных инвазивных процедур, всего из них: биопсия ворсин хориона плацентоцентез амниоцентез кордоцентез	175	163	215
		45	14	18
		130	149	197
		–	–	–
		–	–	–
7	Выявлено хромосомной патологии у плода, всего из них: синдром Дауна синдром Эдвардса	45	44	41
		23	23	21
		6	10	6

Окончание табл.

№	Показатель	2014 г.	2015 г.	2016 г.
	синдром Патау	1	4	0
	синдром Шерешевского–Тернера	5	1	1
	синдром Клайнфельтера	–	1	0
	другие хромосомные аномалии	10	5	13
9	Число беременностей, прерванных по результатам комплексной пренатальной (дородовой) диагностики нарушений развития ребенка на экспертном уровне в сроке 11–14 нед, направленных на пренатальную инвазивную диагностику, всего			
	из них:	144	155	227
	по хромосомной патологии	36	43	41
	по нежизнеспособным нарушениям развития (ВПР)	106	112	186
10	Число родившихся детей с ВПР у женщин, прошедших обследование, всего	90	131	233
	из них не диагностировано при обследовании	50	44	81
11	Число родившихся детей с ВПР у женщин, не прошедших обследование	57	61	59

При увеличении количества взятых на диспансерный учет беременных в сроках до 14 нед увеличивается и эффективность выявления в первом триместре беременности ВПР, не совместимых с жизнью [1]. В 2016 г. группа женщин старше 35 лет составила 12,2% (ожидаемое число случаев синдрома Дауна – 40 на группу 1-го скрининга, по итогам года прерваны 25 случаев и родились 16 детей с синдромом Дауна).

Литература

1. Об утверждении порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология» (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий): приказ Минздрава России от 12 ноября 2012 г. № 572 н.
2. Юпатов Е.Ю. Современные принципы пренатального скрининга // Практическая медицина. 2016. № 1. С. 32–36.

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРЕИМПЛАНТАЦИОННОЙ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ХРОМОСОМНЫХ АНОМАЛИЙ ЭМБРИОНОВ КАК ОСНОВАНИЕ ДЛЯ УТОЧНЕНИЯ КАРИОТИПА ПАЦИЕНТА

Е.В. Мусатова, Я.В. Софронова, Р.А. Биканов, Е.А. Померанцева

Центр генетики и репродуктивной медицины «ГЕНЕТИКО», г. Москва

Результаты анализа кариотипа пациентов, вступающих в протокол экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), являются важным фактором оценки риска возникновения хромосомных аномалий при прогнозе потомства. Наблюдаемый при преимплантационной генетической диагностике (ПГД) профиль хромосомных аномалий эмбриона не должен противоречить результатам кариотипирования родителей. В настоящем сообщении представлен пример уточнения кариотипа пациентки по результатам ПГД хромосомных аномалий, а также пример выявления при ПГД эмбрионов признаков носительства транслокации одним из родителей.

Клинический случай № 1. ПГД хромосомных аномалий в семье была выполнена методом aCGH на микроматрицах 24sure+ (Illumina, США) в связи с носительством пациенткой сбалансированной реципрокной транслокации. Анализ кариотипа пациентки в связи с первичным бесплодием был выполнен в двух независимых лабораториях, и получен одинаковый результат – 46,XX,t(4;13)(p14;q34). Возраст пациентки на момент проведения циклов ЭКО-ПГД составил 33 года. Было проведено 2 цикла ЭКО-ПГД с биопсией трофэктодермы на 5–6-е сут развития эмбрионов. Результаты преимплантационной диагностики хромосомных аномалий приведены в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Результаты ПГД хромосомных аномалий в цикле ЭКО № 1

№ образца	Результат ПГД	Клиническая интерпретация
T1	arr(4p15.31p14)x1	Сегментарная делеция хромосомы 4
T2	arr(4p15.31p14)x3,(18 q21.1q23)x1	Сегментарная дупликация хромосомы 4 и сегментарная делеция хромосомы 18
T3	arr(1-22)x2,(X,Y)x1	Сбалансированный кариотип
T4	arr(4p15.32p14)x1	Сегментарная делеция хромосомы 4
T5	arr(1)x3,(4p15.31p14)x1	Анеуплоидный кариотип, сегментарная делеция хромосомы 4

Таблица 2

Результаты ПГД хромосомных аномалий в цикле ЭКО № 2

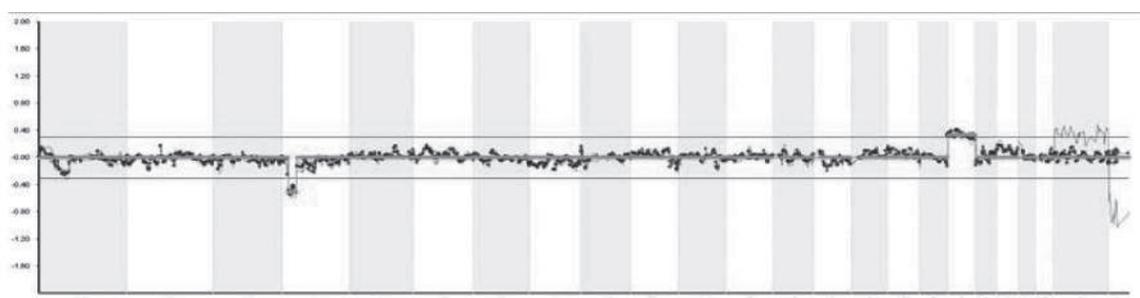
№ образца	Результат ПГД	Клиническая интерпретация
T1	arr(4p15.31p14)x1,(18)x3	Анеуплоидный кариотип, сегментарная делеция хромосомы 4
T2	arr(4p15.31p14)x1,(11)x1,(13)x1,(X)x1	Анеуплоидный кариотип, сегментарная делеция хромосомы 4

Окончание табл. 2

№ образца	Результат ПГД	Клиническая интерпретация
T3	arr(4p15.31p14)x1,(13)x1,(15)x1	Анеуплоидный кариотип, сегментарная делеция хромосомы 4
T4	arr(1-22)x2,(X,Y)x1	Сбалансированный кариотип

Профиль сегментарных нарушений хромосомы 4 был нехарактерен для сегрегации транслокации (рисунок), так как делеции или дупликации подвергался не теломерный, а интерстициальный участок хромосомы 4. Кроме того, обращало на себя внимание крайне небольшое количество эмбрионов с эуплоидным (сбалансированным) кариотипом. В связи с этим имеющийся цитогенетический диагноз пациентки был поставлен под сомнение, и предположено носительство пациенткой инсерции. Предположе-

ние было подтверждено с помощью FISH-анализа с использованием ДНК-зондов к хромосомам 4 и 13. FISH-анализ подтвердил, что пациентка является носительницей инсерции части короткого плеча хромосомы 4 в длинное плечо хромосомы 13. Кроме того, с помощью анализа mBAND4 и mBAND13 была обнаружена перичентрическая инверсия хромосомы 4. Уточнение кариотипа позволило верно оценить и повысить риск хромосомных аномалий в эмбрионах до 80%.



Хромосомный профиль образца T1 из цикла ЭКО № 2

Клинический случай № 2. Проведена ПГД хромосомных аномалий эмбрионов методом aCGH на микроматрицах 24sure (Illumina, США). Биопсия трофэктодермы выполнена на 5-е сут развития эмбрионов. Показанием к проведению ПГД явился поздний репродуктивный возраст пациентки. Информативность о кариотипах пациентов отсутствовала. По характеру выявленных в образцах биопсии сегментарных нарушений было предположено носительство одним из супругов сбалансированной

реципрокной транслокации (возможно, супругом), что было подтверждено при стандартном цитогенетическом исследовании культуры лимфоцитов периферической крови пациентов. Кариотип пациентки – 46,XX,9ph, ее супруга – 46,XY,t(11;22)(q23.3;q13), обнаружена реципрокная транслокация между хромосомами 11 и 22. Результаты преимплантационной диагностики хромосомных аномалий для данного случая приведены в табл. 3.

Таблица 3

Результаты ПГД хромосомных аномалий в цикле ЭКО

№ образца	Результат ПГД	Клиническая интерпретация
T1	arr dup(11)(p15.5q23.2), del(22)(q11.1q11.22)	Сегментарная дупликация хромосомы 11, сегментарная делеция хромосомы 22
T3	arr del(11)(q23.3q25), del(22)(q11.22q13.33)x1 del(22)(q11.1q11.22)x0	Сегментарная дупликация хромосомы 11, сегментарная делеция хромосомы 22, нуллисомия по участку хромосомы 22
T4	arr del(11)(q23.3q25), dup(22)(q11.22q13.33)	Сегментарная делеция хромосомы 11, сегментарная дупликация хромосомы 22
T8*	arr(22)x1	Анеуплоидный кариотип
T11*	arr(7)x3	Анеуплоидный кариотип

* оплодотворение спермой донора.

Приведенные примеры иллюстрируют важность обращения внимания на характер отклонений хромосомных профилей от нормы при проведении

ПГД и выявления закономерностей сегрегации той или иной возможной хромосомной перестройки у одного из родителей.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ХРОМОСОМНОГО ДИСБАЛАНСА В ЭМБРИОНАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ПРИ ПРИВЫЧНОМ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ

Т.В. Никитина¹, Д.И. Жигалина², Е.А. Саженова¹, Е.Н. Толмачёва¹, Н.А. Скрыбин¹, И.Н. Лебедев¹

¹ НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

² Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск

Привычное невынашивание беременности (ПНБ) – потеря двух и более беременностей подряд, затрагивающая до 5% супружеских пар в популяции [1] – является сложной проблемой как для клиницистов, так и для пациентов, особенно когда причина повторной гибели эмбриона не установлена. Средняя частота хромосомных аномалий у спонтанных абортусов человека составляет около 50% [2], и если считать возникновение хромосомных аномалий случайным событием, то, независимо от кариотипа первого выкидыша, последующий в половине случаев должен быть цитогенетически нормальным. Целью данной работы было определить, существует ли закономерная повторяемость хромосомной конституции (нормальной или аномальной) у спонтанных абортусов от одной супружеской пары.

Всего прокаротипировано 108 случаев повторной гибели эмбриона в 51 семье: для 46 женщин был получен анализ кариотипа двух абортусов, для 4 женщин – 3 абортусов, и у одной женщины проанализированы 4 погибших эмбриона. Кариотип абортусов был получен с помощью комбинации нескольких методов: стандартный цитогенетический анализ (73 образца), CGH (29 образцов), FISH и aCGH (по 3 образца). Средний возраст женщин составил (29,7 ± 5,6) лет, а средний срок беременности (9,7 ± 2,8) нед. В соответствии с кариотипом эмбрионы относили к группе «нормальный кариотип» (46,XX или 46,XY) или к группе «аномальный кариотип» (все типы хромосомных аномалий). В зависимости

от последовательности абортусов женщин подразделяли на 4 группы: А – оба эмбриона с аномалиями кариотипа; В – 1-й (предыдущий) абортус с нормальным, 2-й (последующий) с аномальным кариотипом; С – 1-й абортус с аномальным, 2-й с нормальным кариотипом; D – оба абортуса с нормальным кариотипом (таблица). По данным гинекологического обследования, 35,3% (18/51) женщин были здоровы, 58,8% (30/51) имели гормональные, иммунологические или воспалительные заболевания женской половой сферы, ассоциированные с невынашиванием (материнский фактор), для 5,9% (3/51) данные отсутствовали.

Так как в выборке были семьи, для которых прокаротипированы 3 и 4 абортуса, то расчеты проводили двумя способами: I – предыдущий абортус в сравнении со всеми последующими, II – оценивались все сочетания кариотипов эмбрионов. Вычисляли отношение шансов (OR) потери второго эмбриона с таким же кариотипом (нормальным или аномальным), как и у первого абортуса. По I способу OR = 6,98 (95% CI: 2,04–23,88; p = 0,0013), по способу II OR = 7,84 (95% CI: 2,48–24,80; p = 0,0002). Таким образом, обнаружена повышенная вероятность того, что последующий абортус будет иметь такой же кариотип (нормальный или аномальный), что и предыдущий. Интересно, что по наличию материнского фактора, предрасполагающего к невынашиванию беременности, статистически значимых отличий между группами не было (таблица).

Варианты сочетания кариотипов абортусов у женщин с ПНБ

1-й абортус	2-й абортус	Группа	Число женщин (%)	Возраст женщин	Число эмбрионов	Материнский фактор: есть / нет
Аномальный	Аномальный	A	18 (72,0)	30,4 ± 5,4	36	5/12
	Нормальный	C	7 (28,0)	30,7 ± 5,1	15	3/4
Нормальный	Аномальный	B	7 (26,9)	33,1 ± 6,2	16	3/4
	Нормальный	D	19 (73,1)	27,5 ± 5,3*	39	7/10

* статистически значимые отличия по возрасту от групп А и В.

У 19 женщин из 51 (37,3%) все погибшие зародыши были с нормальным кариотипом, причем у 7 таких женщин не было выявлено патологии, обуславливающей невынашивание беременности, включая одну пациентку с тремья и одну – с четырьмя прокаротипированными абортусами. Повторные выкидыши с нормальным кариотипом, предположительно, могут быть обусловлены наличием у таких женщин этиологических факторов невынашивания, не диагностируемых стандартными методами акушерско-гинекологического обследования.

Оба выкидыша с аномалиями кариотипа имели 35,3% (18/51) женщин с ПНБ, что несколько превышает данные большинства других исследова-

телей [3–5]. Из них у 6 женщин аномалии эмбрионов представляли собой повторные трисомии по различным хромосомам (гетеротрисомии), еще в одной семье оба абортуса имели трисомию хромосомы 16. 11 случаев повторной гибели эмбрионов с аномальным кариотипом оказались сочетанием различных типов аномалий: трисомии с триплоидией (4 семьи), трисомии с тетраплоидией (4 семьи), трисомии с моносомией X (2 семьи) и мозаичной моносомии аутосом с тетраплоидией (1 семья). Внутри группы А средний возраст женщин с двумя трисомными выкидышами был выше, чем у женщин с двумя выкидышами с различными типами аномалий (33,1 ± 3,45 и 28,7 ± 5,78 соответственно, p = 0,025). Некоторые женщины имеют более

высокий риск хромосомного нерасхождения, чем другие в том же возрасте [6]. Возможно, часть пациентов с повторными трисомиями из нашей выборки также относятся к этой категории. При сочетании у абортусов аберраций различных типов более вероятным объяснением представляется случайность: маловероятно, чтобы наличие конкретного типа аномалии могло быть связано с повышенным риском возникновения другого типа аномалий, так как в их формирование вовлечены различные механизмы.

Исследование выполнено на базе Центра коллективного пользования «Медицинская геномика» (НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, г. Томск) с использованием материалов биологической коллекции «Биобанк населения Северной Евразии» (№ 0550-20й7-0016-0019).

ПРЕИМПЛАНТАЦИОННАЯ ДИАГНОСТИКА МОНОГЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ: ОПЫТ ПРОВЕДЕНИЯ И СОВМЕЩЕНИЕ СО СКРИНИНГОМ НА ХРОМОСОМНЫЕ АНОМАЛИИ

А.А. Орлова, С.О. Жикривецкая, Я.В. Софронова, Е.В. Мусатова, Е.А. Померанцева

Центр генетики и репродуктивной медицины «ГЕНЕТИКО», г. Москва

Основные задачи генетического обследования пациентов, прибегающих к вспомогательным репродуктивным технологиям, – это определение генетических факторов снижения фертильности, прогноз здоровья потомства, снижение риска рождения больного ребенка и повышение эффективности ЭКО. Последние две задачи решаются при помощи преимплантационной генетической диагностики – ПГД. Различают ПГД моногенных заболеваний и хромосомных аномалий. Диагностика хромосомных нарушений также называется ПГС – преимплантационный генетический скрининг.

ПГД моногенных заболеваний проводится в тех семьях, где имеется высокий риск рождения ребенка с неизлечимым наследственным заболеванием и установлена мутация, вызывающая заболевание в конкретной семье. Задачей ПГД в этом случае является выбор среди полученных при помощи ЭКО эмбрионов таких, которые не унаследовали мутацию (комбинацию мутаций), приводящую к заболеванию. Дополнительной задачей может являться скрининг на хромосомные аномалии и (или) диагностика HLA для выявления эмбриона, не только свободного от заболевания, но и гистосовместимого с имеющимся больным ребенком в случае, если пробанд может быть излечен трансплантацией кроветворных клеток, например пуповинной крови.

Показания к ПГС значительно шире. Это связано с тем, что современные методики позволяют анализировать все хромосомы одновременно, и такой скрининг дополнительно помогает увеличить эффективность переноса эмбрионов при ЭКО и снизить частоту самопроизвольного прерывания беременности [1].

При анализе эмбрионов на моногенное заболевание основная сложность, с которой сталкивается лаборатория, – разработка тест-системы для до-

Литература

1. Rai R., Regan L. Recurrent miscarriage // *Lancet*. 2006. V. 368. P. 601–611.
2. Никитина Т.В., Лебедев И.Н. Цитогенетика привычного невынашивания беременности // *Генетика*. 2014. Т. 50, № 5. С. 501–514.
3. Warburton D., Kline J., Stein Z. et al. Does the karyotype of a spontaneous abortion predict the karyotype of a subsequent abortion? – Evidence from 273 women with two karyotyped spontaneous abortions // *Am. J. Hum. Genet.* 1987. V. 41. P. 465–483.
4. Sullivan A.E., Silver R.M., LaCoursiere D.Y. et al. Recurrent fetal aneuploidy and recurrent miscarriage // *Obstet. Gynecol.* 2004. V. 104. P. 784–788.
5. Skrzypczak J., Kwinecka-Dmitriew B., Zakrzewska M., Latos-Bieleńska A. Do chromosomal abnormalities reappear in subsequent pregnancies and how often? // *Ginekol. Pol.* 2010. V. 81, № 9. P. 681–686.
6. Vialard F., Boitrelle F., Molina-Gomes D., Selva J. Predisposition to aneuploidy in the oocyte // *Cytogenet. Genome Res.* 2011. V. 133, № (2–4). P. 127–135.

стоверного определения мутантного и нормального аллеля даже в условиях неполной амплификации образца и его подверженности деградации [2]. Мы применили следующие меры для увеличения надежности тест-системы: разработали систему контролей для выявления и снижения частоты потери материала на долабораторном этапе; использовали двойную систему анализа мутаций с применением двух рестриктаз, которые имеют сайт узнавания в нормальном и мутантном аллеле; использовали избыточное количество полиморфных маркеров на этапе разработки диагностического набора.

Для разных заболеваний использовалось от 7 до 19 полиморфных STR маркеров на этапе разработки диагностической системы и гаплотипирования семьи. В среднем 10 из них были информативными и были использованы для анализа эмбрионов. Результат по моногенному заболеванию, позволяющий сделать рекомендацию о переносе эмбриона, был получен во всех случаях проведения ПГД.

В нашей лаборатории были разработаны диагностические тест-системы для следующих заболеваний (генов):

- аутосомно-рецессивный поликистоз почек (PKHD1);
- аутосомно-доминантный поликистоз почек (PKD1);
- зональная катаракта (GJA3);
- СМА I, болезнь Верднига–Гоффмана (SMN1);
- семейная средиземноморская лихорадка (MEFV);
- болезнь Канаван (ASPA);
- аутосомно-рецессивная несиндромальная тугоухость (GJB2);
- хорей Гентингтона (HTT);
- невральная амиотрофия Шарко–Мари–Тута (PMP22);

- врожденная спондилоэпифизарная дисплазия (*COL2A1*);
- семейная гипертрофическая кардиомиопатия (*CSRP3*);
- туберозный склероз I типа (*TSC1*);
- миодистрофия Дюшенна – Беккера (*DMD*);
- муковисцидоз (*CFTR*);
- врожденный семейный остеосклероз (Остеопетроз) (*CLCN7*);
- ахондроплазия (*FGFR3*);
- гемофилия А (*F8*);
- наследственный сфероцитоз (болезнь Минковского–Шоффара) (*SPTB*);
- блефарофимоз, птоз, эпикантус инверсус синдром (*FOXL2*);
- множественные экзостозы тип I (*EXT1*);
- множественные экзостозы тип II (*EXT2*);
- синдром Ретта (*MeCP2*);
- синдром Оменна (*RAG1*);
- серповидно-клеточная анемия (*HBB*);
- нейрональный цероидный липофусциноз 2 типа (*TPP1*);
- метахроматическая лейкодистрофия (*ARSA*);
- синдром Альпорта (*COL4A5*);
- синдром Вискотта–Олдрича (*WAS*);
- определение гистосовместимости (*HLA*);
- определение резус-фактора (*RhD*).

Были проведены предварительная разработка диагностического набора и гаплотипирование для 36 семей. Все пациенты прошли ПГД-консультирование с участием врача-генетика и подписали информированное согласие, содержащее информацию о рисках, сопряженных с ПГД, и об альтернативных методах диагностики и лечения. Набор для ПГД включал праймеры для прямой (где возможно) диагностики мутации и косвенной диагностики наследования гаплотипа при помощи полиморфных маркеров STR. Предварительная отработка тест-системы была проведена на единичных клетках, продуктах полногеномной

амплификации (WGA) и ДНК семьи. Гаплотипирование было выполнено при помощи анализа родословной либо единичных сперматозоидов (для мутаций отцовского происхождения).

Диагностика эмбрионов была выполнена в 26 циклах ЭКО-ИКСИ. Амплификация материала была успешно проведена для 119 из 127 образцов. Для 57 образцов был проведен также скрининг на анеуплоидию всех хромосом методами aCGH или NGS. Статус «не рекомендован к переносу» по результатам ПГД (из-за унаследованного заболевания) был присвоен 42 из 117 эмбрионов, а по результатам ПГС (из-за хромосомных аномалий) – 19 из 57. Хромосомный скрининг проводился только для эмбрионов, не унаследовавших заболевание (по согласованию с семьей).

Ранее считалось, что пациенты, прибегающие к ПГД из-за наследственного заболевания в семье, обычно не имеют репродуктивных проблем, и хромосомный скрининг им не показан. Однако если учесть, что при использовании ооцитов здоровых доноров (возраст < 35 лет) частота анеуплоидии в нашей выборке из 682 эмбрионов составляет 38%, то скрининг на хромосомные аномалии эмбрионов, проверенных на моногенные заболевания, может быть рекомендован. Наши данные подтверждают, что без ПГС часть эмбрионов, одобренных к переносу на основании результатов ПГД, имеют несовместимые с нормальным развитием хромосомные аномалии.

Литература

1. Sermon K., Capalbo A., Cohen J. et al. The why, the how and the when of PGS 2.0: current practices and expert opinions of fertility specialists, molecular biologists, and embryologists // *Mol. Hum. Reprod.* 2016. V. 22 (8). P. 845–857.
2. Rechitsky S., Verlinsky O., Amet T. et al. Reliability of pre-implantation diagnosis for single gene disorders // *Mol Cell Endocrinol.* 2001. V. 183, Suppl. 1. P. S65–S68.

РОЛЬ CNVs В ЭТИОЛОГИИ АНЭМБРИОНИИ И НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Р.Р. Савченко¹, А.А. Кашеварова¹, Н.А. Скрыбин¹, Д.И. Жигалина²,
М.Е. Лопаткина¹, Т.В. Никитина¹, С.А. Васильев¹, И.Н. Лебедев¹

¹ НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

² Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск

Поскольку проблема высокой частоты репродуктивных потерь чрезвычайно актуальна для человека, поиск причин невынашивания беременности, бесспорно имеющих многофакторную природу, представляется одной из ключевых задач современной репродуктивной биологии и медицины. Известно, что от 15 до 25% клинически распознаваемых беременностей спонтанно прерываются в первом триместре, при этом ключевая роль в этиологии ранних репродуктивных потерь отводится генетическим факторам, одним из которых могут выступать вариации числа копий участков ДНК (copy number variation, CNV). С целью картирования регионов генома, а также поиска кандидатных генов, вариабельность по числу копий которых может быть ассоциирована с ранней

эмбриональной летальностью, было проведено ретроспективное молекулярно-цитогенетическое исследование случаев анэмбрионии и неразвивающейся беременности с наличием плодного материала.

Материалы и методы

Материалы исследования были представлены 29 образцами внезародышевых тканей, а именно цитотрофобластом хориона (14 образцов) и экстраэмбриональной мезодермой (15 образцов) спонтанных абортусов первого триместра беременности, полученных от женщин с диагнозом «анэмбриония», и 18 образцами экстраэмбриональной мезодермы, полученными от женщин с диагнозом «неразвива-

ющая» беременность сопоставимых сроков. Все внутриутробно погибшие зародыши имели нормальный кариотип по результатам стандартного кариотипирования и сравнительной геномной гибридизации на препаратах метафазных хромосом.

Результаты и обсуждение

Применение матричной сравнительной геномной гибридизации позволило выявить в общей сложности 299 CNVs при анэмбрионии и 132 CNVs при неразвивающейся беременности. После исключения из дальнейшего анализа вариаций, встречающихся у здоровых индивидов, а также вариаций, не содержащих гены, оставшиеся CNVs были классифицированы как потенциально патогенетически значимые для эмбрионального развития. Их число составило 35 и 25 в группах анэмбрионии и неразвивающейся беременности соответственно. Размеры CNVs находились в диапазоне от 30 Кб до 5 Мб в группе анэмбрионии и от 0,35 Кб до 2,414 Мб при неразвивающейся беременности.

При анализе качественного состава вариаций оказалось, что CNVs, выявленные при анэмбрионии, были представлены как микроделециями (19 CNVs), так и микродупликациями (16 CNVs), в то время как вариации, зарегистрированные при неразвивающейся беременности, в обследованной нами выборке были представлены исключительно микродупликациями хромосомных участков. Эти отличия представляются интересными с точки зрения интерпретации значимости CNVs для успешного прохождения ранних этапов эмбриогенеза. Традиционно считается, что делеции приводят к более тяжелым патологическим проявлениям, чем амплификации. Принимая во внимание, что анэмбриония является наиболее тяжелой формой эмбриональной патологии, а также то, что в данной группе было обнаружено больше микроделеций, можно предположить,

что микроделеции генов, продукты которых играют важную роль в процессах раннего онтогенеза, могут приводить к развитию анэмбрионии.

Анализ геномного состава CNVs показал, что при анэмбрионии по данным базы «Mammalian phenotype», были статистически значимо обогащены группы генов, связанные с эмбриональной летальностью. Продукты этих генов играют важную роль в реализации фундаментальных биологических процессов, таких как клеточное деление, дифференцировка, выживание, рост и миграция клеток, обеспечение межклеточных взаимодействий, дробление и гастрюляция. Вероятно, изменения числа копий данных генов потенциально могут вызывать наиболее критичные нарушения в развитии зародыша, что и наблюдается при анэмбрионии – тяжелой форме патологии эмбрионального развития, при которой нарушения происходят на самых ранних этапах дифференцировки внутренней клеточной массы зародыша и эмбрион не формируется. В группе неразвивающейся беременности среди всех потенциально патогенетически значимых генов были обогащены те, что связаны по данным базы «Mammalian phenotype», с аномальным развитием мозга, сердечной мышцы, почек, костной ткани и конечностей. Возможно, дисбаланс по числу копий данных генов может стать причиной серьезных физиологических нарушений, приводящих к остановке внутриутробного развития на более поздних стадиях первого триместра, после того как эмбрион уже начал формироваться.

Работа проведена на базе Центра коллективного пользования «Медицинская геномика» (НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, г. Томск) с использованием материалов биологической коллекции «Биобанк населения Северной Евразии» (№ 0550-20й7-0016-0019). Исследование проведено при поддержке гранта РФФИ № 16-15-10229.

ИНДЕКС МЕТИЛИРОВАНИЯ ИМПРИНТИРОВАННЫХ ГЕНОВ *GRB10* И *GNAS* ПРИ НАРУШЕНИЯХ ЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ ЧЕЛОВЕКА

Е.А. Саженова¹, А.В. Марков¹, Т.В. Никитина¹, Н.А. Скрыбин¹, С.А. Васильев¹, Е.Н. Толмачёва¹, М.С. Назаренко^{1,2}, И.Н. Лебедев^{1,2}

¹ НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

² Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск

Одной из актуальных проблем современного акушерства остается невынашивание беременности, которое, по некоторым оценкам, охватывает около 25% супружеских пар репродуктивного возраста [1]. Репродукцию человека контролируют как генетические механизмы, так и эпигенетические факторы регуляции генной экспрессии, одним из которых является геномный импринтинг, играющий ключевую роль в обеспечении нормального эмбрионального развития [2]. Механизмы импринтинга преимущественно связаны с дифференциальным метилированием промоторных регионов импринтированных генов и регуляторных последовательностей (центров импринтинга), устанавливаемым строго специфичным образом в гаметогенезе и

поддерживаемым в соматических клетках на протяжении всего онтогенеза. Нарушение дифференциального метилирования импринтированных генов приводит к эпимутациям, которые могут быть представлены как aberrантным гиперметилированием экспрессируемого аллеля, так и, напротив, аномальным гипометилированием инактивированного аллеля. В первом случае происходит полная потеря продукта импринтированного гена в клетке, тогда как во втором наблюдается увеличение дозы гена вследствие установления его биаллельной экспрессии и потери импринтинга.

Ранее нами в ходе исследования статуса метилирования с использованием ДНК-метилочипов на платформе GoldenGate Methylation Cancer Panel (Illumina)

мина, США) впервые были обнаружены эпимутации в генах *GNAS* и *GRB10* в эмбриональных тканях при нарушении внутриутробного развития человека [3, 4]. Продукт гена *GRB10* (OMIM: 601523, 7p12.2) принадлежит к адаптерным белкам. Сверхэкспрессия некоторых изоформ кодируемого белка ингибирует активность тирозинкиназы и, таким образом, подавляет рост клеток. Ген *GNAS* (OMIM: 139320, 20q13.3) представляет собой сложный локус, который кодирует один биаллельный (*Gsa*) и четыре моноаллельных (*NESP55*, *GNAS-AS1*, *XLsa* и *A/B*) транскрипта. Транскрипт *NESP55* участвует в регуляции процессов метилирования дифференциально метилированных регионов (ДМР) *GNAS*, что влияет на экспрессию данного локуса [5]. Белок *NESP55* принадлежит к семейству гранинов, которые участвуют в эндокринных и нейроэндокринных сигнальных путях и контролируют доставку гормонов, нейротрансмиттеров и факторов роста. Сверхэкспрессия *NESP55* приводит к усилению роста клеток. **Целью настоящего исследования явился анализ индекса метилирования (ИМ) импринтированных локусов *NESP55* и *GRB10* в выборке спонтанных абортусов (СА) I триместра беременности с нормальным кариотипом.**

Материалы и методы

Работа выполнена на внезародышевой мезодерме 47 СА I триместра беременности с нормальным кариотипом, полученных от женщин с диагнозом «неразвивающаяся беременность». В качестве контроля исследована внезародышевая мезодерма 45 медицинских абортусов (МА) I триместра беременности с нормальным кариотипом от женщин, не пожелавших сохранить нормально протекавшую беременность по социальным показаниям. Продолжительность внутриутробного периода развития определялась по дате последней менструации и составила для СА ($7,64 \pm 1,24$) нед для МА ($7,69 \pm 1,27$) нед.

ИМ определяли путем пиросеквенирования 5 CpG-динуклеотидов локуса *NESP55* и 8 CpG гена *GRB10*, расположенных в ДМР этих генов, на пиросеквенаторе PyroMark Q24 (Qiagen, Германия). Сравнение ИМ в группах проводилось с использованием t-критерия Стьюдента и анализа главных компонент.

Результаты и обсуждение

Для локуса *NESP55* сравнение среднего показателя ИМ среди пяти CpG-динуклеотидов в анализируемых группах показало, что в контрольной группе минимальное значение данного показателя соответствовало $41,7 \pm 7,7\%$ в третьем CpG, а максимальное – $43,5 \pm 8,3\%$ в первом CpG со средним значением по всем CpG сайтам – $42,7 \pm 9,6\%$. Для группы СА данные показатели находились в пределах $47,7 \pm 9,8\%$ в пятом CpG и $50,0 \pm 8,1\%$ во втором CpG, со средним значением $49,4 \pm 7,8\%$ соответственно. В целом анализ ИМ *NESP55* в группе медицинских и спонтанных абортусов показал его статистически значимое увеличение у внутриутробно погиб-

ших эмбрионов как по отдельным анализируемым CpG-сайтам, так и в целом по пяти исследованным CpG динуклеотидам ($p < 0,05$).

Для гена *GRB10* среднее значение ИМ в контрольной группе варьировало в пределах от $49,3 \pm 9,2\%$ в третьем CpG до $51,3 \pm 6,1\%$ в первом со средним показателем по всем CpG $50,2 \pm 4,4\%$. В выборке СА данные показатели составили $37,9 \pm 7,7\%$ в первом CpG, $41,8 \pm 7,6\%$ во втором CpG со средним значением ИМ этой группы $40,6 \pm 6,5\%$ соответственно. В целом ИМ *GRB10* в группе СА по сравнению с МА был статистически значимо ниже как по отдельным CpG, так и в целом между группами ($p < 0,01$), что могло привести к увеличению экспрессии данного гена и, соответственно, к увеличению количества белка. Используя анализ главных компонент, было показано, что ИМ *NESP55* у одного из 47 СА (2,13%) отличался от остальных в сторону увеличения уровня метилирования его CpG-сайтов. Для *GRB10* выявлено два СА из 47 (2,26%) с отличным от остальной группы ИМ в сторону уменьшения.

Заключение

Выявленные нарушения индекса метилирования импринтированных генов *NESP55* и *GRB10* в группе СА с нормальным кариотипом могли стать причиной остановки эмбрионального развития. Исходя из функции исследованных генов, можно предположить, что увеличение ИМ *NESP55* и его снижение в *GRB10* могло усиливать подавление роста плода и привести к возможной остановке развития эмбриона.

Исследование выполнено в рамках государственного задания ФАНО РФ по теме «Эпигенетический компонент соматической вариабельности генома при патологии ранних этапов онтогенеза человека» (№ госрегистрации: 0550-2014-0302) на базе Центра коллективного пользования «Медицинская геномика» (НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, г. Томск) с использованием материалов биологической коллекции «Биобанк населения Северной Евразии».

Литература

1. Радзинский В.Е. Неразвивающаяся беременность: методические рекомендации МАРС. М.: Редакция журнала StatusPraesens, 2015. 48 с.
2. Elhamamsy A.R. Role of DNA methylation in imprinting disorders: an updated review // J. Assist. Reprod. Genet. 2017. V. 34, № 5. P. 549–562.
3. Саженова Е.А., Скрябин Н.А., Суханова Н.Н., Лебедев И.Н. Мультилокусные эпимутации импринтома при патологии эмбрионального развития человека // Молекулярная биология. 2012. Т. 46, № 2. С. 204–213.
4. Саженова Е.А., Никитина Т.В., Скрябин Н.А. и др. Эпигенетический статус импринтированных генов в плаценте при привычном невынашивании беременности // Генетика. 2017. Т. 53, № 3. С. 364–377.
5. Turan S., Bastepe M. The GNAS complex locus and human diseases associated with loss-of-function mutations or epimutations within this imprinted gene // Horm. Res. Paediatr. 2013. V. 80, № 4. P. 229–241.

ОПЫТ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ В ЯРОСЛАВСКОЙ ОБЛАСТИ

Ю.А. Трухина, С.В. Тихомирова, А.А. Сягин, Е.В. Гонтова,
М.Ю. Абросимова, В.Б. Веледницкий, Н.А. Кулева

Областной перинатальный центр, г. Ярославль

С января 2015 г. по февраль 2017 г. в рамках программы пренатального скрининга в Ярославской области были обследованы 24 607 беременных женщин. Все беременные женщины в сроке 11–14 нед гестации направлялись врачами женских консультаций города и области на УЗИ экспертного уровня в Областной перинатальный центр (ОПЦ) или межрайонные медицинские центры. В этот же день производился забор крови для определения материнских сывороточных маркеров хромосомной патологии (PAPP-A и β -ХГЧ), которое для жительниц области выполнялось централизованно в медико-генетической консультации (МГК) Областного перинатального центра на автоматическом анализаторе AutoDELFIA. Расчет риска хромосомной патологии проводился с помощью программы Astraia с учетом возраста беременной, ультразвуковых и сывороточных маркеров.

Группа риска (1 : 100 и выше) за данный период составила 331 случай (1,8%). Инвазивная пренатальная диагностика (ИПД) после консультации в МГК была проведена 165 женщинам из этой группы. Исследовали кариотип метафазных хромосом, полученных из клеток ворсин плаценты (реже – хориона), методом прямой постановки. В единичных случаях в качестве подтверждающей диагностики использовался кордоцентез.

Выявлено 43 случая хромосомной патологии плода. Спектр хромосомной патологии представлен различными числовыми и структурными нарушениями: синдром Дауна диагностирован у 19 плодов

(44,2%), синдром Эдвардса – в 8 случаях (18,6%), синдром Патау – в 6 случаях (14%), синдром Шерешевского–Тернера – у 6 плодов (14%), мозаичные нарушения – у 2 плодов (4,6%; 1 случай триплоидии и 1 моносомии X), структурные нарушения – у 2 плодов (4,6%).

Таким образом, эффективность ИПД составила 26%. Мы проанализировали изолированную частоту встречаемости УЗ-маркеров хромосомной патологии и изменение биохимических маркеров в группе женщин, прошедших ИПД. У 70% женщин из группы с хромосомной патологией плода из УЗ-маркеров чаще всего встречалось увеличение ТВП, причем более чем в половине случаев (38%) ТВП была 5 мм и более. Данный показатель коррелировал с частотой встречаемости синдрома Шерешевского–Тернера ($r = 0,32$, $p \leq 0,05$). Анализ биохимических маркеров показал снижение ХГЧ у 26% женщин из группы с хромосомной патологией плода, также была отмечена обратная корреляционная зависимость данного показателя с частотой встречаемости хромосомной патологии ($r = -0,44$, $p \leq 0,05$). Другие показатели не имели значимых отличий по сравнению с группой женщин с нормальным кариотипом плода.

В целом в группе женщин с выявленной хромосомной патологией плода 7% имели только патологические УЗ-маркеры (все с синдромом Шерешевского–Тернера), у 16% были изменения только со стороны биохимических показателей, и в большинстве случаев – 77% – хромосомная патология была диагностирована по сочетанным маркерам.

ГЕНОМНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ДИАГНОСТИКЕ НАРУШЕНИЙ ФОРМИРОВАНИЯ ПОЛА, РАЗВИТИЯ ПОЛОВОЙ СИСТЕМЫ И РЕПРОДУКЦИИ

В.Б. Черных^{1,2}

¹ Медико-генетический научный центр, г. Москва

² Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России, г. Москва

Генетические нарушения являются основными этиологическими факторами нарушений формирования пола (НФП), аномалий развития органов половой системы, тяжелых форм бесплодия и большинства случаев невынашивания беременности. Частота различных мутаций при нарушениях репродуктивной системы составляет до 50% и более. Несмотря на высокую значимость и частоту генетических факторов в репродукции человека, их диагностика остается недостаточно эффективной. Вследствие выраженной генетической гетерогенности значительное количество мутаций не удается выявить при «стандартном» медико-генетическом обследовании. Дополнительные молекулярно-генетическое и молекулярно-цитогенетическое исследование особенно актуальны при высокогетерогенных,

редких и спорадических наследственных заболеваниях, в том числе затрагивающих половую систему. Молекулярная диагностика с помощью общепринятых, «рутинных» методов исследования (ЦПР, FISH и их модификации, ПДРФ, MLPA, ДНК-секвенирование по Сэнгеру и др.) для многих генетических нарушений репродукции крайне трудна или низкоэффективна, поэтому она требует использования методов широкогеномного или полногеномного анализа. Их применение особенно актуально для детекции множества генных мутаций и микроструктурных перестроек хромосом, вариаций числа копий (CNV).

Стремительное развитие геномных технологий, снижение их себестоимости в последние годы привели к значительному расширению возможностей молекулярной диагностики различных мутаций /

генетических вариантов, в том числе связанных с нарушением развития и функции репродуктивной системы. Геномные методы анализа активно применяются не только с исследовательской, но и с диагностической целью. С помощью сравнительной геномной гибридизации / хромосомного микроматричного анализа (ХМА) в постнатальной и пренатальной цитогенетической диагностике выполняют исследование анеуплоидий, несбалансированных перестроек хромосом, в том числе при невынашивании беременности – спонтанных аборт, замерших беременностях, анэмбрионии. ХМА также может быть использован для анализа несбалансированных структурных перестроек половых хромосом и уточнения / верификации их точек разрыва, исследования механизма хромосомных перестроек. Анализ однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) позволяет детектировать участки потери гетерозиготности, однородительские изодисомии. В преимплантационной генетической диагностике для детекции / скрининга (ПГС) полных и частичных анеуплоидий успешно используют ДНК секвенирования нового поколения (NGS).

Проведены исследования CNV при различных нарушениях формирования пола и аномалиях развития репродуктивной системы (преимущественно не связанных с цитогенетически идентифицируемыми аномалиями кариотипа), мужском и женском бесплодии и невынашивании беременности, а также у зуплоидных плодов при потере беременности. Ряд микроструктурных вариантов CNV, в том числе в генах-кандидатах на нарушение репродукции, определен в различных локусах как половых хромосом, так и аутосом.

Поскольку присутствие структурных перестроек хромосом может влиять на конъюгацию и рекомбинацию гомологичных хромосом в ходе мейоза, приняты исследования CNV у мужчин с бесплодием вследствие нарушения сперматогенеза. Некоторые CNV могут влиять на экспрессию генов в тканях гонад и приводить к нарушениям гаметогенеза. Полученные результаты однозначно не подтвердили предположение о повышенном количестве микроделеций и микродупликаций в геноме у инфертильных пациентов по сравнению с фертильными. Очевидно, что большинство CNV, не затрагивающих гены, влияющие на деление, дифференцировку и созревание половых клеток, не приводят к нарушению гаметогенеза и мейоза. Выявлены различия как по количеству микроделеций X-хромосомы на индивидуума в группе мужчин с бесплодием, по сравнению с фертильными мужчинами, так и по среднему размеру микроделеций X-хромосомы на индивидуума. Обнаружены микродупликации X-хромосомы, которые значимо чаще отмечены у мужчин с бесплодием. Наиболее часто выявленные перестройки затрагивали локусы, содержащие представителей семейства генов, кодирующих антигены при раке яичка.

Вследствие высокой гетерогенности большинства случаев нарушения репродукции, связанных с генетическими причинами / факторами, анализ отдельных генов или их групп (панелей) в неотобранных группах пациентов с бесплодием, невынашиванием беременности низкоэффективен или неэффективен. Использование GWAS – широкогеномного исследования генофенотипических ассоциаций в определении генотипа – позволяет проводить поиск кандидатных генов, ответственных за развитие различных моногенных и полигенных заболеваний и патологических признаков. Однако следует учитывать популяционные генетические различия и особенности.

Проведение экзомного секвенирования существенно повышает результативность ДНК-диагностики генетически обусловленных нарушений репродуктивной системы. Использование NGS в сочетании с другими методами значительно (в 2–3 раза, до 50–60%) повышает результативность выявления генетических причин нарушений формирования пола и аномалий полового развития (XX- и XY-дисгенезии гонад, овотестикулярной и других форм НФП). Комплексный анализ 32 генов, связанных первичной цилиарной дискинезией (ПЦД), позволяет повысить выявляемость мутаций при ПЦД до 75–80%. Недавно с помощью полноэкзомного секвенирования обнаружен второй (первый – *CFTR*) ген *ADGRG2*, мутации которого приводят к обструктивной азооспермии – синдрому CBAVD; выявлены новые гены, связанные с развитием гипогонадотропного гипогонадизма, с синдромальными формами нарушения гаметогенеза и гаметопатий.

Однако не следует считать, что новые молекулярные методы исследования полностью вытеснят «старые» генетические методы (стандартное цитогенетическое исследование, FISH-анализ, ПЦР и др.). Многие из них стали рутинными и широко используются в репродуктивной генетике. Кроме того, геномные методы анализа помимо своих преимуществ имеют ряд ограничений и часто требуют подтверждения обнаруженных изменений с помощью стандартных «классических» методов: секвенирования по Сэнгеру, количественной ПЦР, FISH-анализа и др.

Применение геномных технологий позволяет значительно расширить возможности генетической диагностики и эффективность медико-генетического консультирования. Умелое комбинирование различных методов является оптимальным подходом в обследовании пациентов с высокогетерогенной генетической патологией. Наиболее целесообразно выполнение широко- или полногеномного анализа для диагностики причин аномалий формирования пола и полового развития, гипогонадизма, тяжелых форм мужского и женского бесплодия, невынашивания беременности неясного генеза.

ПРЕКОНЦЕПЦИОННЫЙ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ: ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Н.А. Широкова, С.О. Жикривецкая, Р.А. Биканов, А.А. Орлова, Н.В. Ветрова, Е.А. Померанцева

Центр генетики и репродуктивной медицины «ГЕНЕТИКО», г. Москва

Назначение генетического тестирования с целью обнаружения носительства частых мутаций, ответственных за развитие аутосомно-рецессивных заболеваний в семьях, планирующих беременность, является обычной практикой врачей-генетиков. Под преконцепционным скринингом понимают генетический скрининг, позволяющий обнаружить носительство мутации в гетерозиготном состоянии у здорового человека, чтобы оценить риск развития моногенных заболеваний у его потомства. На территории Российской Федерации в таких случаях обычно рекомендуют исследование частых мутаций в 4 генах аутосомно-рецессивных заболеваний – *PAH*, *CFTR*, *SMN1* и *GJB2* (не 4 заболеваний, а 4 генов).

Основанием для исследования этих генов является высокая распространенность заболеваний, вызванных мутациями в них, а также частота гетерозиготного носительства, подтвержденная большим количеством популяционных исследований и данными неонатального скрининга [1–3]. Американское общество акушеров-гинекологов в своих рекомендациях указывает на целесообразность исследования при планировании беременности частых мутаций в 2 генах – *CFTR*, *SMN1*, однако также регламентирует возможность и критерии включения в преконцепционный скрининг и других мутаций, приводящих к развитию рецессивных заболеваний [4]. Современный уровень развития молекулярно-генетических технологий позволяет значительно расширить спектр исследуемых мутаций при проведении преконцепционного скрининга. Распространение вспомогательных репродуктивных технологий, использование донорских гамет и просто озабоченность потенциальных родителей здоровьем будущего ребенка выдвигают задачи разработки скрининговых тестов, обладающих как можно большей информативностью. Для этой цели была разработана диагностическая панель, которая позволяет анализировать 39 мутаций, ассоциированных с развитием более 20 тяжелых и (или) несовместимых с жизнью наследственных патологий.

В задачи исследования входили выбор наиболее частых мутаций в генах тяжелых моногенных заболеваний, характерных для европейской и российской популяций, и проведение исследования информативности предложенной диагностической панели в выборке людей без моногенной патологии.

Валидация панели проводилась на образцах синтетической и контрольной ДНК с известным генотипом.

Материалы и методы

Всего было проанализировано 538 образцов ДНК (470 – от пациентов клиник ЭКО, 59 – от доноров спермы и 9 – от здоровых добровольцев), из них 65,6% образцов от женщин. У обследованных в семейном анамнезе не было указаний на наличие отягощенности по наследственной патологии. ДНК была амплифицирована с использованием TaqMan проб в микрофлюидных планшетах. Детекция продуктов ПЦР проводилась по конечной точке. Определение количества копий гена *SMN1* проводилось методом MLPA с использованием коммерческого набора SALSA MLPA P060 (MRC-Holland, Нидерланды).

Критериями включения мутаций в набор являлись достоверная высокая патогенность мутации и частота встречаемости в европейской и российской популяции. Изначально в панель входило 48 мутаций. На этапе валидации использовались образцы контрольной ДНК и смеси синтетической ДНК, имитирующие дикий тип, гетерозиготу и мутацию по всем точкам, входящим в панель. Мутации, для которых показатели специфичности, чувствительности и точности составили менее 98%, были исключены из панели. Также из панели были исключены в связи с пересмотром клинического статуса следующие варианты: с.7093G>A (*ABCA12*), с.2492A>G (*POLG*), с.976G>A (*ACAD9*).

Результаты

В ходе исследования мутации были обнаружены у 29 человек, из них у 1 обследуемого установлены мутации в 2 генах (таблица). Спектр выявленных мутаций был представлен следующими вариантами: с.1521_1523delCTT, с.1545_1546delTA (*CFTR*), с.3207C>A (*ATP7B*), с.452G>A (*DHCR7*), с.1903C>T (*LAMB3*), с.657_661delACAAA (*NBN*), с.1062+5G>A (*FAH*), с.206C>T (*IDUA*), с.422G>A (*PMM2*), с.563A>G (*GALT*), с.1423C>T (*ADAMTS13*), с.-26+2T>C, с.835C>T (*SLC26A2*). Общая частота встречаемости мутаций в выборке совпала с частотами баз данных NCBI и ExAc, достоверные различия в отношении отдельных нозологий могут объясняться небольшим размером выборки.

Спектр и частота выявленных мутаций

Ген	rs	Мутация (HT)	Частота мутации (ExAc, NCBI)	Число гетерозигот	Число гомозигот	Частота
<i>CFTR</i>	rs113993960	с.1521_1523delCTT	0,0061	3	0	0,003
<i>CFTR</i>	rs121908776	с.1545_1546delTA	–	1	0	0,001
<i>ATP7B</i>	rs76151636	с.3207C>A	0,0016	4	1	0,006
<i>DHCR7</i>	rs11555217	с.452G>A	0,0010	5	0	0,005
<i>NBN</i>	rs587776650	с.657_661delACAAA	0,0056	2	0	0,002

Окончание табл.

Ген	rs	Мутация (НТ)	Частота мутации (ExAC, NCBI)	Число гетерозигот	Число гомозигот	Частота
<i>LAMB3</i>	rs80356682	c.1903C>T	0,0013	2	0	0,002
<i>IDUA</i>	rs121965020	c.208C>T	0,0008	2	0	0,002
<i>PMM2</i>	rs28936415	c.422G>A	0,01	2	0	0,002
<i>GALT</i>	rs75391579	c.563A>G	0,002	1	0	0,001
<i>ADAMTS13</i>	rs11575933	c.1423C>T	0,002	3	0	0,001
<i>FAH</i>	rs80338901	c.1062+5G>A	0,0010	2	0	0,0027
<i>SLC26A2</i>	rs386833492	c.-26+2T>C	–	1	0	0,001
<i>SLC26A2</i>	rs104893915	c.835C>T	0,001	1	0	0,001

Кроме того, в 107 образцах было проведено исследование на наличие делеции 7 и (или) 8 экзонов гена *SMN1*, в 4 случаях носительство делеции подтверждено (0,037).

Таким образом, исключив случай диагностированного наследственного заболевания, можно говорить о том, что носительство хотя бы одной патологической мутации выявлено у 5,3% обследуемых. Это несколько меньше ожидаемой вероятности 5,9%, рассчитанной из данных по частотам мутаций. Предложенная панель может быть использована для скринингового исследования носительства частых мутаций, ответственных за развитие тяжелых наследственных заболеваний, и рекомендована всем парам, планирующим беременность, и донорам гамет в программах ВРТ. Корректная интерпретация и оценка репродуктивных рисков (индивидуальных

и семейных) приведут к увеличению вероятности рождения здорового ребенка. Кроме того, полученные результаты подтверждают целесообразность расширения скрининга на моногенные патологии.

Литература

1. Гинтер Е.К., Зинченко Р.А. Наследственные болезни в российских популяциях // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2006. Т. 10, № 1. С. 106–125.
2. Капранов Н.И. Муковисцидоз – современное состояние проблемы // Пульмонология. 2006. Приложение по муковисцидозу. С. 5–11.
3. Матулевич С.А. Массовый скрининг новорожденных на наследственные болезни обмена как часть системы медико-генетической помощи населению : дис. ... д-ра мед. наук. М., 2009. 211 с.
4. Carrier Screening for Genetic Conditions. Committee Opinion № 691. American College of Obstetricians and Gynecologists // Obstet. Gynecol. 2017. V. 129. P. 41–55.

Раздел 9

КЛИНИЧЕСКАЯ ГЕНЕТИКА И МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ КОНСУЛЬТИРОВАНИЕ

КОМПЛЕКСНАЯ ДИАГНОСТИКА ХРОМОСОМНОЙ ПАТОЛОГИИ ДВУХ КЛИНИЧЕСКИХ СЛУЧАЕВ

Т.А. Гайнер^{1,2}, В.Г. Матвеева^{1,2}, О.Г. Каримова^{1,2}, О.Л. Корень³, Т.В. Карамышева⁴, Н.Б. Рубцов⁴

¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск

² Центр персонализированной медицины, г. Новосибирск

³ ЦСМ Здравица, г. Новосибирск

⁴ Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Цитогенетическая диагностика, выполненная с помощью GTG-окрашивания хромосом, не всегда позволяет поставить окончательный диагноз. Уточнить кариотип пациента и дать ему обоснованный медико-генетический прогноз возможно с привлечением дополнительных методов (СВГ- и Ag-NOR-окрашивание, молекулярно-цитогенетические методы). В докладе представлены примеры такого расширенного цитогенетического анализа.

Случай 1. Восьмилетняя девочка с умеренными когнитивными и неврозоподобными нарушениями. В анамнезе задержка психомоторного развития. У ребенка диспластическое телосложение, покатые плечи, латерализация лопаток, крупные стопы и кисти, узкая грудная клетка, гипотелоризм сосков, «круглая» спина. Кроме того отмечены диффузная гипермобильность суставов и мышечная гипотония, «кофейное» пятно на правой голени, несколько очагов витилиго, диспластичные, мягкие ногтевые пластины, длинный фильтр, ямка на кончике носа. Неврологическая симптоматика: легкая дискоординация глазодвигателей, псевдобульбарная дизартрия, высокие коленные рефлексy, положительная проба Ромберга, мелокинетическая диспраксия.

По результатам стандартного цитогенетического исследования кариотип аномальный, короткое плечо хромосомы 4 меньше нормы (рис. 1). Причиной выявленной аномалии могла быть либо несбалансированная транслокация, либо интерстициальная делеция, возникшая *de novo*. Кариотип пациентки: 46,XX,der(4)t(4;?) (p12;?) or del(4)(p12p15.2).

Для уточнения диагноза было рекомендовано кариотипирование родителей, но они от обследования отказались. Поэтому было выполнено молекулярно-цитогенетическое исследование. Проведена двухцветная супрессионная гибридизация *in situ* (CISS-гибридизация) микродиссекционных, плечеспецифичных ДНК-проб, специфичных короткому (PCP4p) и длинному плечу (PCP4q) хромосомы 4. CISS-гибридизация PCP4p полностью окрасила р-плечо хромосомы der(4), тогда как CISS-гибридизация PCP4q окрасила лишь ее длинное плечо. Район окрашенный PCP4p хромосомы der(4) по размеру значительно уступал короткому плечу нормальной хромосомы 4. По результатам проведенного исследования кариотип пациента представляет собой 46,XX,del(4)(p12p15.2).

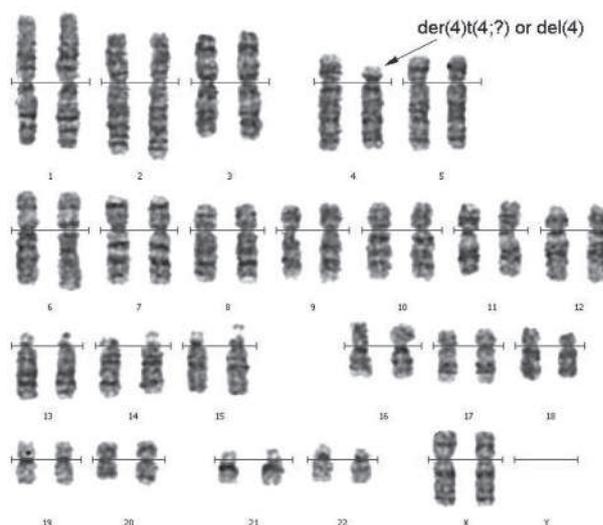


Рис. 1. Кариограмма пациентки (случай 1).
GTG-дифференциальное окрашивание

Таким образом, у девочки частичная моносомия короткого плеча хромосомы 4. Для проксимальной моносомии 4p, по литературным данным, характерны умственная отсталость, лицевые дисморфии и эпилепсия [1].

Описано множество случаев делеции короткого плеча хромосомы 4, приводящей к развитию синдрома Вольфа–Хиршхорна. Для него характерны резкая задержка психомоторного и психического развития, микроцефалия, гипертелоризм, клювовидный нос, микрогения, деформированные ушные раковины с преартикулярными складками, гипотония мышц, судороги. Довольно часты расщелины верхней губы и неба, деформации стоп, эпикант, неправильной формы углубления в области крестца [2]. Критический район для развития данного синдрома – 4p16 [3], который в данном случае сохранен. Видимо, поэтому клинические проявления у ребенка во многом отличаются от описанных для синдрома Вольфа–Хиршхорна, что говорит об уникальности данного случая.

Случай 2. Мальчик двух лет с задержкой психомоторного развития. У ребенка наблюдаются макроцефалия, высокий лоб, гипертелоризм, монголоидный разрез глаз, широкое уплощенное переносье, эпикант, маленький короткий нос, рот

«карпа», низкое расположение ушных раковин, макротрия, сходящееся косоглазие, клинодактилия 5-х пальцев кистей, конусовидная деформация концевых фаланг кистей. Нижние конечности с вальгусной деформацией, частичная кожная синдактилия 2–3-х пальцев стоп. Двусторонний крипторхизм. Расщелина мягкого неба. По результатам эхокардиографии отмечены малые сердечные аномалии: добавочная хорда левого желудочка, открытое овальное окно.

При стандартном кариотипировании была выявлена сверхчисленная маркерная хромосома (рис. 2). Она имела спутники и, по-видимому, являлась дериватом акроцентрической хромосомы. Два дополнительных вида дифференциального окрашивания хромосом (CBG-, Ag-NOR-) свидетельствовали в пользу того, что маркер является инвертированной дупликацией. Кариотип ребенка: 47,XY,+?inv dup (13 or 14 or 15 or 21 or 22).

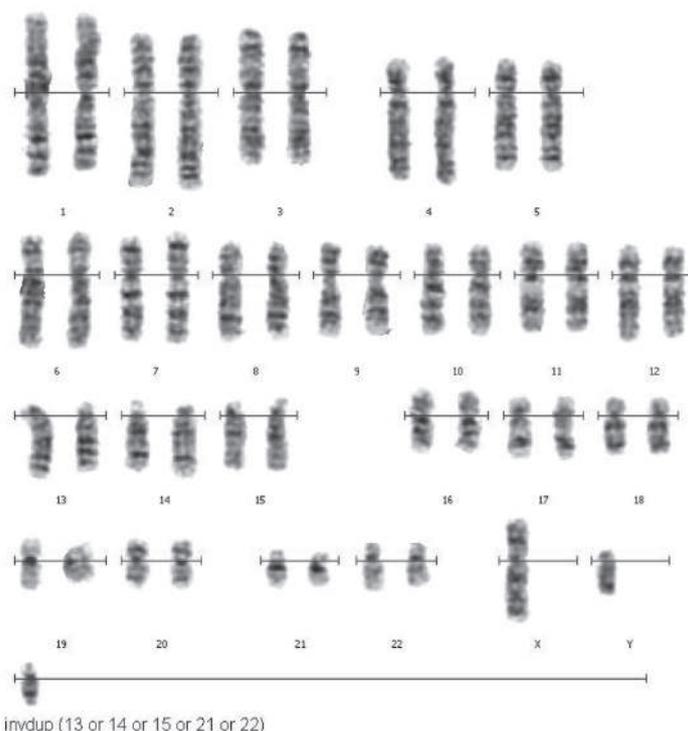


Рис. 2. Кариограмма пациента (случай 2). GTG-дифференциальное окрашивание

Для уточнения диагноза провели супрессионную гибридизацию *in situ* микродиссекционных ДНК-проб, приготовленных ранее из двух маркерных хромосом: *inv dup(15)(q11)* и *inv dup(15)(q13)*. Полученные данные указывают на происхождение маркерной хромосомы из хромосомы 15 и наличие в ее составе материала эухроматинового района хромосомы 15(q11→q13). Таким образом, кариотип пациента: 47,XY,+*inv dup(15)(q13)*.

По литературным данным, присутствие *inv dup(15)* в клетках пациентов связано с развитием синдрома *inv dup(15)*: задержка умственного и общего развития, гипотония, нарушение поведенческих реакций, эпилептические припадки, аномальная дерматоглифика, соматические

нарушения [4]. Клинические проявления у пациента в основном соответствуют описанным в литературе.

Литература

1. Nakayama T., Saitsu H., Endo W. et al. RBPJ is disrupted in a case of proximal 4p deletion syndrome with epilepsy // Brain. Dev. 2014. V. 36 (6). P. 532–536.
2. Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Чернышов В.Н. Медицинская цитогенетика. М.: Медпрактика-М, 2006. 300 с.
3. Wilson M.G., Towner J.W., Coffin G.S. et al. Genetic and clinical studies in 13 patients with the Wolf-Hirschhorn syndrome del(4p) // Hum. Genet. 1981. V. 59. P. 297–307.
4. Webb T., Hardy C.A., King M. et al. A clinical, cytogenetic and molecular study of ten probands with supernumerary *inv dup(15)* marker chromosomes. // Clin. Genet. 1998. V. 53, № 1. P. 34–43.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ 3-ГИДРОКСИ-3-МЕТИЛГЛУТАРИЛ-КОА ЛИАЗЫ

Е.Р. Еремина^{1,2}, В.Б. Цыренова¹

¹ Республиканский перинатальный центр Республики Бурятия, г. Улан-Удэ

² Бурятский государственный университет, г. Улан-Удэ

Наследственное заболевание обмена веществ 3-гидрокси-3-метилглутаровая ацидурия (OMIM 246450) относится к группе органических ацидемий, характеризующихся экскрецией неаминовых органи-

ческих кислот с мочой, возникающих в результате нарушения в катаболизме аминокислот. Причиной ацидемий чаще всего является дефект активности фермента. 3-гидрокси-3-метилглутаровая ациду-

рия имеет рецессивный тип наследования и характеризуется манифестацией у 30% больных в неонатальном периоде и у 60% пациентов в возрасте 3–11 месяцев. Болезнь провоцируется инфекцией и протекает в виде приступов рвоты, летаргии с переходом в коматозное состояние. У всех пациентов наблюдаются приступы метаболического ацидоза в сочетании с тяжелой гипогликемией, мягким кетозом, гипераммониемией, которые осложняются мышечной гипотонией и судорогами. Гепатомегалия и дисфункция печени наблюдаются у многих больных. Около 20% пациентов погибают от тяжелой гипогликемии или метаболической энцефалопатии, которым предшествовала инфекция или иммунизация. При своевременной постановке диагноза больные развиваются нормально при проведении профилактики метаболических кризов. У некоторых больных могут наблюдаться задержка психомоторного развития и умственная отсталость [1, 2].

Для заболевания определен ген *HMGCL* (3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA lyase), локализованный на хромосоме 1p.36.11 [3]. 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА (ГМГ-КоА) лиаза катализирует расщепление ГМГ-КоА на ацетоуксусную кислоту и ацетил-КоА, последнюю стадию кетогенеза и катаболизм лейцина [1, 4]. Мутационное изменение белка *HMGCL*, который расположен в матриксе митохондрий и в пероксисомах, приводит к недостаточности митохондриальной ГМГ-КоА-лиазы в печени, почках, мозге, мышцах, лейкоцитах и фибробластах [1].

Частота дефицита ГМГ-КоА лиазы является низкой, за исключением Саудовской Аравии, где эта патология составляет 16% от всех случаев органических ацидурий [5]. В то же время в англоязычной литературе описан 41 пациент с этим заболеванием [6], также сообщается о 5 больных с дефицитом ГМГ-КоА лиазы из Японии [5].

Мы представляем описание клинического случая редкого аутосомно-рецессивного заболевания – ГМГ-КоА дефицита лиазы у больного Ж. Сведения о клинических проявлениях и течении заболевания у пациента получены при анализе медицинской документации. Мать и отец ребенка соматически здоровы, кровное родство между собой отрицают. Пациент Ж. – от четвертой беременности, которая протекала на фоне преэклампсии в третьем триместре и закончилась самопроизвольными родами в 40 нед, рождением мальчика массой 3 790 г при росте 52 см, с оценкой по шкале Апгар 7 баллов на первой минуте и 8 баллов на пятой минуте жизни. Из анамнеза известно, что ребенок от первой беременности умер на 7-е сут (судорожный синдром неуточненной этиологии), вторая беременность закончилась рождением здоровой девочки, третья беременность перестала развиваться на 4-й нед.

Больной Ж. после рождения поступил в детское отделение в удовлетворительном состоянии. На 2-е сут жизни развилась гипертермия до 38,0 С°, которая нормализовалась путем физических методов охлаждения. На 3-и сут жизни при отрицательной динамике, включая тонические судороги, пациент переведен в отделение реанимации и интенсивной терапии. Мальчик находился на искусственной вентиляции легких 36 ч, на фоне положительной динамики показателей кислотно-основного состояния

был экстубирован, судороги купированы. По данным ультразвукового исследования описаны диффузные изменения паренхимы, печень выходит за пределы реберной дуги на 2 см.

При консультации больного Ж. врачом-генетиком указано на необходимость исключения наследственного нарушения белкового обмена. Даны рекомендации по соблюдению низкобелковой и низкожировой диеты, необходимости избегать длительного голодания, отказу от иммунизации или осуществлению тщательного контроля при неизбежности ее проведения.

В результате проведения тандемной масс-спектрометрии (Медико-генетический научный центр, г. Москва; заведующая лабораторией наследственных болезней обмена доктор биологических наук Е.Ю. Захарова) в крови пациента выявлено резкое повышение концентрации 3-гидрокси-изовалерил-2-метил-3-гидроксис-бутилкарнитина. Определение органических кислот в моче показало повышение концентраций 3-гидрокси-3-метилглутаровой кислоты, 3-метилкротонилглицина, 3-метилглутаконовой кислоты, 3-метилглутаровой кислоты, 3-метилкротонилглицина. Повышение перечисленных метаболитов при анализе на органические кислоты в крови и моче свидетельствует о наследственном заболевании обмена веществ 3-гидрокси-3-метилглутаровой ацидурии у больного Ж.

В динамике при повторном ультразвуковом исследовании печени больного Ж. размеры органа в пределах нормы, паренхима средней эхогенности, сосудистый рисунок не изменен. При пальпации печень на 1 см выходит из-за края реберной дуги. Физиологические рефлексии вызываются симметрично с обеих сторон.

После лечения в неонатальном стационаре пациент Ж. выписан в удовлетворительном состоянии с диагнозом «перинатальное поражение ЦНС гипоксического генеза, синдром двигательных вегетативных нарушений».

У пациента Ж. при частичном анализе гена *HMGCL* в 5-й экзоне выявлена мутация NM_00019 c.C392T>S131L в гомозиготном состоянии. У отца и матери пробанда данная мутация обнаружена в гетерозиготном состоянии. Данных об этой мутации в гене *HMGCL* в литературе не найдено [7].

На основании молекулярно-генетической диагностики семье даны рекомендации по пренатальной диагностике, проведение которой возможно до 8 нед беременности.

Анализ медицинской документации больного Ж. показал, что дефицит ГМГ-КоА-лиазы манифестировал в неонатальном периоде. Своевременная диагностика, лечение и профилактика метаболических кризов позволяют дать благоприятный прогноз для жизни больных этим заболеванием.

Литература

1. Краснопольская К.Д. Наследственные болезни обмена веществ. М.: Фохат, 2005. 364 с.
2. Gibson K.M., Breuer J., Kaiser K. et al. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A lyase deficiency: report of five new patients // J. Inherit. Metab. Dis. 1988. V. 11. P. 76–87.
3. Mitchell G.A., Robert M.-F., Hruz P.W. et al. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A lyase (HL): cloning of human and chicken liver HL cDNAs and characterization of

- a mutation causing human HL deficiency // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268. P. 4376–4381.
4. *Faull K.F., Bolton P.D., Halpern B. et al.* The urinary organic acid profile associated with 3-hydroxy-3-methylglutaric aciduria // *Clin. Chim. Acta.* 1976. V. 73. P. 553–559.
 5. *Muroi J., Yorifuji T., Uematsu A. et al.* Molecular and clinical analysis of Japanese patients with 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA lyase (HL) deficiency // *Hum. Genet.* 2000. V. 107. P. 320–326.
 6. *Ozand P.T., Devoil E.B., Gascon G.G.* Neurometabolic diseases at a national referral center: five years experience at the King Faisal Specialist Hospital and Research Centre // *J. Child Neurol.* 1992. V. 7 (Suppl.). P. S4–S11.
 7. www.ncbi.nlm.nih.gov

ИНТЕРЕСНЫЕ СЛУЧАИ МОЗАИЧНЫХ ВАРИАНТОВ БОЛЕЗНИ ДАУНА

А.С. Иванова, И.А. Лапутин, Н.Ю. Герасименко, Л.В. Гусева

Областная клиническая больница, г. Омск

Болезнь Дауна – самая распространенная хромосомная болезнь. Частота мозаичных вариантов по данным литературы составляет 3%. Большая часть мозаицизма представлена наличием двух клонов клеток – нормальных и с трисомией 21. Однако в нашей практике встретились два случая с редкой формой мозаицизма: в кариотипе у пациентов имеется клон клеток с изохромосомой 21q. В литературе аналогичные случаи встречаются редко.

Пациент № 1. Девочка 9 мес, вес – 7 790 г, рост – 67 см, физическое развитие среднее, телосложение правильное, кожные покровы чистые, череп обычной формы. Лицевые микроаномалии: глазной гипертелоризм, открытый рот, высунутый язык. Большой родничок открыт (0,5–0,5 см), мышечный тонус удовлетворительный, дыхание пуэрильное, тоны сердца ясные, ритмичные, половые органы сформированы по женскому типу.

Кариотип: mos46, XX,+21,der(21;21)(q10;q10)[4]/46,XX[38].

Пациент № 2. Девочка 11 мес, вес – 9 300 г, рост – 71 см, окружность головы – 43 см. Ребенок от 2-й беременности, 2-х родов (первый ребенок здоров), держит голову с 4 мес, сидит с 9,5 мес, говорит слоги, ходит, держась за руки, игрушки не узнает. Мать пробанда работает педагогом информатики, в первые 2 нед после зачатия было воздействие химических мутагенов (в доме был ремонт).

Физическое развитие среднее, телосложение пропорциональное, кожные покровы чистые,

бледно-розовые, брахицефалия, питание достаточное. Лицевые микроаномалии: монголоидный разрез глаз, гипертелоризм, широкая переносица, плоский затылок, высокорасположенные, гипопластичные, оттопыренные ушные раковины. Зубы – 2 резца, костная система без особенностей, большой родничок открыт (0,5–0,5 см), мышечный тонус снижен, дыхание пуэрильное, слышен систолический шум, половые органы сформированы по женскому типу.

УЗИ головного мозга, абдоминальное – без структурных изменений, ЭХО КГ – открытый артериальный проток, открытое овальное окно.

Кариотип: mos47,XX,+21,der(21;21)(q10;q10),+mar[16]/46,XX,+21,der(21;21)(q10;q10)[7]/46,XX[38].

Маркерная хромосома представлена маленьким метацентриком, по морфологии напоминает изохромосому по короткому плечу хромосомы 21. Кариотип родителей: 46,XX и 46,XY. У женщины была 3-я беременность, проведена пренатальная диагностика, кариотип плода 46,XY, беременность пролонгируется.

Кариотипы пациентов записаны через деривативную хромосому, так как нет подтверждения о происхождении хромосомы, но вероятнее всего – это изохромосомы, образовавшиеся в постзиготический период. Обращает внимание, что оба пациента женского пола, что подтверждает данные литературы о феномене преобладания девочек при мозаичных вариантах по хромосоме 21.

ОМСКОЙ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ МГК – 40 ЛЕТ

И.А. Лапутин, А.С. Иванова

Областная клиническая больница, г. Омск

Становление генетической службы в г. Омске началось в 1976 г., когда на базе Омской областной клинической больницы научными сотрудниками стали проводиться цитогенетические исследования с целью обследования детей и взрослых с подозрением на болезнь Дауна, синдромы Шерешевского–Тернера и Кляйнфельтера. В 1979 г. был организован кабинет медицинской генетики. Начался прием пациентов с подозрением на наследственные заболевания с последующим цитогенетическим и биохимическим обследованием.

За период с 1976 по 2016 г. в цитогенетической лаборатории проведено 27 241 исследование, про-

цент выявления патологии составил 12–13%. С 1984 г. в лаборатории стали обследовать пациентов с гемобластозами просмотром препаратов из пунктата костного мозга.

В первые годы исследование кариотипа проводилось на рутинной окраске, в 1986 г. внедрен дифференциальный G-метод окраски хромосомных препаратов, что качественно повысило уровень диагностики хромосомных болезней. С 1996 г. в лаборатории на постоянной основе работают два врача-цитогенетика. В лаборатории используются G- и C-окраски хромосомных препаратов.

С 2006 г. в лаборатории стала проводиться пренатальная диагностика хромосомных болезней. Сначала был внедрен кордоцентез, а в 2012 г. – хорионбиопсия и плацентоцентез. За эти годы было проведено 1 559 пренатальных исследований, патология выявлена в 11%. Необходимо отметить, что при внедрении хорионбиопсии и плацентоцентеза возросла выявляемость хромосомных аберраций у плода с 6 до 22%. С 2014 г. стали проводить кариотипирование абортного биоматериала, патология выявлена в 75% случаев.

В 2016 г. внедрен метод флюоресцентной гибридизации *in situ* для диагностики микроделеционных синдромов, тканевого мозаицизма, уточнения структурных хромосомных перестроек.

В настоящее время в лаборатории проводится диагностика следующих синдромов: «кошачьего крика», Вильямса, Прадера–Вилли, Ангельмана, Смит–Магенис, Миллера–Дикера, ДиДжорджи, Кальмана, X-сцепленный ихтиоз, низкорослость.

В дальнейшем планируется расширение спектра диагностируемых синдромов, прибавятся зонды для диагностики синдрома Вольфа–Хиришхорна, нейрофиброматоза I типа, синдрома Сотоса, диафрагмальной грыжи.

За 2016 г. обследованы 98 человек, у 20% обратившихся за обследованием выявлена патология. В 2017 г. начали проводить пренатальную молекулярно-цитогенетическую диагностику беременным женщинам при наличии у плода ультразвуковых маркеров хромосомных болезней и при нормальном кариотипе.

В заключение хочется поблагодарить всех коллег из НИИ медицинской генетики (г. Томск) и сотрудников Лаборатории пренатальной диагностики наследственных и врожденных болезней НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта (г. Санкт-Петербург), которые постоянно оказывают помощь при обучении на циклах усовершенствования, внедрении новых цитогенетических методов, улучшении практических навыков.

ГОМОЦИСТИНУРИЯ ВСЛЕДСТВИЕ НАРУШЕНИЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО ОБМЕНА КОБАЛАМИНА. ПРИМЕР КЛИНИЧЕСКОГО СЛУЧАЯ

Л.В. Лязина

Диагностический центр (медико-генетический), г. Санкт-Петербург

Гомоцистинурия – редкое (орфанное) заболевание, связанное с нарушением в обмене незаменимой аминокислоты метионина. В настоящее время выделяют три формы гомоцистинурии:

1) классический вариант гомоцистинурии вследствие недостаточности фермента цистатион-бета-синтетазы;

2) гомоцистинурия вследствие недостаточности фермента метилтетрагидрофолат редуктазы,

3) гомоцистинурия вследствие нарушения внутриклеточного обмена кобаламина (витамин В₁₂).

Классический вариант гомоцистинурии клинически значительно отличается от двух других форм и сопровождается повышением уровня метионина в крови, но для всех трех вариантов характерно повышение уровня гомоцистеина в биологических жидкостях организма (кровь, моча).

Витамин В₁₂ – группа кобальтсодержащих биологически активных веществ, называемых кобаламинами; различают внеклеточные и внутриклеточные формы кобаламинов. При поступлении путем эндоцитоза в клетку транскобаламин претерпевает ряд химических превращений, определяя разную функциональную активность кобаламинов (Cbl). В тканях организма, главным образом в печени и почках, витамин В₁₂ превращается в коферменты: аденозилкобаламин (AdoCbl), метилкобаламин (MeCbl). Аденозилкобаламин является кофактором фермента метилмалонил-КоА-мутаза. Метилмалонил-КоА-мутаза – фермент митохондрий, осуществляет диссимиляцию метионина (Met) и других аминокислот – валина, изолейцина, треонина на стадии изомеризации метилмалонил-КоА в сукцинил-КоА. При недостаточности витамина В₁₂ снижается активность метилмалонил-КоА-мутаза, что приводит к на-

рушению пропионатного пути обмена аминокислот. Промежуточный метаболит – метилмалонат – экскретируется из организма, не превращаясь в сукцинил-КоА и, следовательно, не поступая в цикл Кребса, с которым связан обмен аминокислот, углеводов, липидов [1]. Функционирование метилмалонил-КоА-мутаза зависит от активности внутриклеточных кобаламинов: CblA (ген *MMAA*), CblB (ген *MMAVB*), CblC (ген *MMAHC*), CblD (ген *MMADHC*), CblF (ген *LMBRD1*), CblJ (ген *ABCD4*). Дефекты CblA и CblB приводят к дефициту AdoCbl, клинически проявляющемуся метилмалоновой ацидезией, а CblC, CblD, CblF, CblJ – к сочетанному дефициту AdoCbl и MeCbl, который является кофактором фермента метионин-синтетазы; биохимически проявляются повышением значений гомоцистеина и метилмалоновой кислоты в крови и моче, нормальным или сниженным значением Met в плазме [2].

Метионинсинтетаза катализирует перемещение метильных групп от N-метилтетрагидрофолата к гомоцистеину с образованием метионина; одновременно обеспечивает поддержание в активном состоянии фолатной системы, осуществляющей перенос одноуглеродистых соединений в обмене гистидина, биосинтезе пуринов, тимидина и, соответственно, в синтезе нуклеиновых кислот. При недостатке витамина В₁₂ ресинтез метионина данной системой прекращается, а фолиевая кислота накапливается в виде не используемого в других реакциях метилтетрагидрофолата. Данный фермент содержится в активно пролиферирующих клетках костного мозга и эпителия [1]. Дефекты CblE (ген *MTRR*) и CblG (ген *MTR*) приводят к биохимическому фенотипу повышения значения гомоцистеина, низкому Met в плазме без повышения уровня метилмалоновой кислоты [2].

Клинически нарушения внутриклеточного обмена кобаламина могут манифестировать в разном возрасте неврологической и нейропсихиатрической симптоматикой. В детском возрасте характерные клинические симптомы: нарушения вскармливания, срыгивания, рвоты, задержка психомоторного развития, судороги, летаргия, мышечная гипотония, микроцефалия, нистагм, дегенерации сетчатки, атрофия зрительного нерва, атрофия вещества головного мозга, частые инфекционные заболевания, мегалобластная анемия, панцитопения [1, 2].

С подозрением на митохондриальную патологию у ребенка в СПб ГКУЗ МГЦ обратилась семья. У родителей брак первый, не родственник. Беременность протекала с многоводием. Роды срочные. При рождении: масса тела – 3 400 г, длина тела – 52 см, окружность головы – 36 см. Оценка по шкале Апгар – 8/9 баллов. До 3 мес развивался без особенностей. В 3 мес перенес obstructивный бронхит, была проведена прививка АКДС. Ребенок стал вялым, перестал улыбаться; отсутствие контакта во взгляде. Появился тремор подбородка. В 5 мес госпитализирован в связи с судорожным приступом (тремор верхних конечностей, подбородка) на фоне гипертермии до 38,5° С. Отмечалась тяжелая неврологическая симптоматика (угнетение сознания, судорожный синдром); сосательный рефлекс отсутствовал. По КОС – компенсированный метаболический ацидоз. На животе высыпания по типу контактного дерматита. По МРТ выраженные атрофические изменения головного мозга, внутренняя и наружная гидроцефалия. По результатам ЭЭГ фоновый ритм низкоамплитудный, недифференцированный с непостоянной регистрацией эпилептиформной активности. При осмотре офтальмологом подозрение на частичную атрофию зрительного нерва обоих глаз. Получал противосудорожную терапию. В динамике сохраняется задержка психомоторного развития.

В 9 мес повторно госпитализирован в связи с выявленной панцитопенией. В клиническом анализе крови выявляются макроциты, анизоцитоз. При осмотре отмечаются вялость, сонливость, гиподинамия, пастозность мягких тканей, повышенная зябкость, диффузная мышечная гипотония. Назначены метаболическая и противовоспалительная терапия,

коррекция КОС. Переведен на ИВЛ в связи с бронхообструктивным синдромом, диагностирована правосторонняя бронхопневмония. Самостоятельное дыхание неэффективно, наложена трахеостома. Отмечаются арефлексия, атония. В динамике по МРТ головного мозга описаны изменения в виде диффузной корково-подкорковой атрофии больших полушарий мозга, заместительной тетраентрикулярной лейкопатии и кортико-субкортикальных изменений в затылочных долях и зрительных буграх. По результату органических кислот мочи уровень метилмалоновой кислоты значительно не изменен. По результату исследования крови методом ТМС выявлено снижение Мет. При двукратном исследовании гомоцистеина крови его уровень сохранялся высоким – 81 мкмоль/л (при норме 5–15).

По клиническим и биохимическим данным диагностирована гомоцистинурия, атипичная форма; наиболее вероятны дефекты CblE и CblG или дефицит метилентетрагидрофолатредуктазы (ген *MTHFR*).

С целью прогноза потомства в семье проводится молекулярно-генетическое исследование в Лаборатории пренатальной диагностики наследственных и врожденных болезней НИИАГиР им. Д.О. Отта методом секвенирования нового поколения (NGS) на аппарате HiSeq 2500 (Illumina, США) кодирующих регионов генов *ABCD4*, *LMBRD1*, *MMACHC*, *MMADHC*, *MTR*, *MTRR*, *MTHFR*.

В основу лечения патологии входит ежедневное парентеральное введение больших доз витамина B₁₂ (гидроксикобаламин) и прием препарата Бетаин (Цистадан), который активирует процессы метилирования в печени и служит источником метильных групп в реакциях синтеза аминокислоты метионина из гомоцистеина. В зависимости от клинико-биохимической картины назначается высококалорийная и низкобелковая диета, а также пиридоксин, карнитин, фолаты.

Литература

1. Папаян А.В., Жукова Л.Ю. Анемии у детей: руководство для врачей. СПб.: Питер, 2001. 384 с.
2. Gherasim C., Lofgren M., Banerjee R. Navigating the B₁₂ road: assimilation, delivery, and disorders of Cobalamin // J. Biol. Chem. 2013. V. 288, № 19. P. 13186–13193.

ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ У ПАЦИЕНТОВ С DE NOVO X-АУТОСОМНЫМИ НЕСБАЛАНСИРОВАННЫМИ ТРАНСЛОКАЦИЯМИ

Ж.Г. Маркова, М.Е. Миньженкова, Т.Г. Цветкова, В.А. Галкина, Н.В. Шилова

Медико-генетический научный центр, г. Москва

Транслокации между X-хромосомой и аутосомами встречаются достаточно редко. Как сбалансированные, так и несбалансированные варианты X-аутосомных транслокаций отличаются большой вариативностью клинических проявлений и имеют особенности, связанные с феноменом инактивации X-хромосомы [1].

Как известно, в соматических клетках здоровых женщин одна хромосома X подвергается инактивации,

компенсируя дозу генов у двух полов. Это приводит к мозаицизму по двум клонам клеток, экспрессирующих аллели отцовских или материнских хромосом X. При несбалансированных X-аутосомных транслокациях инактивация дериватной хромосомы сопровождается распространением «транскрипционного сайленсинга» на аутосомный фрагмент [2]. В этом случае наблюдается неслучайная инактивация, когда в большинстве соматических

клеток организма дериватная хромосома инактивируется, а нормальная хромосома X остается активной, что отражает вторичную селекцию против генетически несбалансированных клеток в период раннего эмбрионального развития [3].

Представлены клинические, цитогенетические и молекулярно-цитогенетические данные двух пациентов с несбалансированными X-аутосомными транслокациями, возникшими *de novo*.

Случай 1. Пробанд, 14-летняя девочка с подозрением на синдром Шерешевского–Тернера. При осмотре пациента врачом-генетиком отмечены низкий рост, укороченная шея, расширенная и уплощенная грудная клетка, гипертелоризм сосков, деформация и укорочение предплечий, специфическое строение ногтевого ложа (ногтевая пластинка узкая, ноготь гипоплазирован), клинодактилия двух пальцев рук, отсутствие вторичных половых признаков, нормальный интеллект.

Цитогенетический анализ (GTG) культивированных лимфоцитов периферической крови выявил аномальный кариотип: 46,X,ins(X;18)(p22;p11q23).

FISH с ДНК-зондами на центромерный гетерохроматин хромосомы 18 (CEP 18), субтеломерные районы хромосом 18 и X (tel 18 p/q, tel X p/q), а также mBAND X и mBAND 18 и повторное цитогенетическое исследование позволили интерпретировать кариотип пробанда как 46,X,psu idic(X;18)(p22.3;p11.32)dn. Таким образом, у пробанда выявлены делеция района p22.3→pter короткого плеча хромосомы X и дупликация района p11.32→qter хромосомы 18.

Случай 2. Пробанд, 2-летняя девочка с задержкой психомоторного и речевого развития и множественными врожденными аномалиями развития: постаксиальная полидактилия левой кисти, низко расположенные ушные раковины, приросшая мочка ушей, гипертелоризм, широкая плоская переносица, широкие первые пальцы стоп, плосковальгусная установка стоп, ангиома на спине.

Цитогенетический анализ (GTG) культивированных лимфоцитов периферической крови выявил аномальный кариотип с дополнительным материалом неизвестного происхождения на длинном плече хромосомы X. M-FISH показал, что профиль гибри-

дизации дополнительного материала соответствовал хромосоме 12. Дуплицированный район хромосомы 12 был идентифицирован при использовании mBAND 12 как 12q23→12qter. Таким образом, кариотип пробанда: 46,X,der(X)t(X;12)(q26;q23)dn.

Представленные случаи *de novo* несбалансированных X-аутосомных транслокаций с различными фенотипическими проявлениями могут быть объяснены характером инактивации дериватной хромосомы X.

Можно предположить, что в первом случае преимущественно инактивируется дериватная хромосома X. Распространение инактивации на транслоцированный аутосомный сегмент объясняет отсутствие фенотипического эффекта дупликации значительного фрагмента хромосомы 18. Наличие делеции района p22.3→pter короткого плеча хромосомы X и, как следствие, функциональная моносомия локализованных в нем генов могут вносить вклад в клиническую картину, приводя к фенотипическим проявлениям синдрома Тернера.

У второго пациента фенотип обусловлен дупликацией района q24→qter хромосомы 12 и делецией района q23→qter хромосомы X, что позволяет предположить в данном случае отсутствие инактивации дериватной хромосомы X.

Таким образом, у пациентов с *de novo* X-аутосомными несбалансированными транслокациями фенотипические проявления могут быть различной степени тяжести, как правило, их невозможно спрогнозировать.

Литература

1. Минайчева Л.И., Суханова Н.Н., Назаренко Л.П. и др. Случай редкой сбалансированной транслокации между хромосомами X и 13 // Медицинская генетика. 2008. № 5. С. 38–41.
2. Sharp A.J., Spotswood H.T., Robinson D.O. et al. Molecular and cytogenetic analysis of the spreading of X inactivation in X; autosome translocations // Hum. Mol. Genet. 2002. V. 11 (25). P. 3145–3156.
3. Gardner R.J.M., Sutherland G.R., Shaffer L.G. Chromosome abnormalities and genetic counselin. 4th ed. Oxford: Oxford University Press, 2011.

ИНТЕРХРОМОСОМНАЯ И ИНТРАХРОМОСОМНАЯ ИНСЕРЦИИ С УЧАСТИЕМ ХРОМОСОМЫ 2

М.Е. Миньженкова, Ж.Г. Маркова, Е.Л. Дадали, Н.В. Шилова

Медико-генетический научный центр, г. Москва

Инсерции являются достаточно редкой хромосомной патологией в цитогенетической практике. В последние годы ощутимо увеличились данные о частоте встречаемости этой группы перестроек, приблизительно в 20 раз [1]. Очевидно, это связано с внедрением современных молекулярно-генетических технологий, таких как хромосомный микроматричный анализ (ХМА) и секвенирование ДНК, что позволило значительно расширить возможности выявления хромосомного дисбаланса у пациентов. Однако не только диагностика геномного дисбаланса, но и определение его происхождения являются значимыми для прогноза потомства. Носительство

инсерций характеризуется высоким репродуктивным риском. Вероятность иметь потомство с несбалансированным хромосомным набором в среднем составляет 32% для мужчин и 36% для женщин – носителей инсерций [2]. Причем этот риск увеличивается, если инсертированный фрагмент небольшого размера – < 1% гаплоидной длины аутосом (HAL), и снижается при размере фрагмента >1,5% HAL. Идентифицировать сбалансированные инсерции кроме стандартного цитогенетического метода позволяет флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH).

Представлено два семейных случая инсерций с участием хромосомы 2.

Случай 1. Пациент, 1,5 лет, обследован по поводу задержки темпов психомоторного развития, синдром неизвестной этиологии, синдрома дисплазии соединительной ткани, врожденного нистагма, утолщенных пальцев стоп. При стандартном цитогенетическом исследовании определен кариотип пациента: 46,XY. ХМА показал дупликацию участка длинного плеча хромосомы 7 с позиции 124,533,538 до позиции 140,719,797, захватывающую районы 7q31.33q34. FISH-анализ с использованием цельно-хромосомного ДНК-зонда на хромосому 7 (WCP 7) позволил определить вставку дублированного участка в хромосому 2. Размер инсерции составил 0,56% HAL.

Было проведено стандартное цитогенетическое исследование родителей пациента. У отца обнаружена сбалансированная инсерция материала хромосомы 7 (q31.33q34) в районе q35 длинного плеча хромосомы 2. mBAND 7 позволил охарактеризовать инсерцию как прямую. В сочетании с этими данными кариотип пробанда: 46,XY,der(2)ins(2;7)(q35;q31.33q34)pat. Кроме того, было проведено обследование родственников пациента. В возрасте 6 лет тете пробанда в связи с наличием умственной отсталости легкой степени, низким ростом, короткой шеей, вальгусной деформацией голени провели стандартное цитогенетическое исследование. Кариотип был определен как нормальный. В настоящий момент (возраст 38 лет) при ХМА определен тот же геномный дисбаланс, что и у племянника. FISH-исследование с использованием цельно-хромосомных ДНК-зондов подтвердило несбалансированную интерхромосомную инсерцию. Бабушка пациента по отцовской линии также является носителем сбалансированной интерхромосомной инсерции: 46,XX,ins(2;7)(q35;q31.33q34), что было обнаружено при исследовании ее кариотипа. Таким образом, два члена этой семьи имеют дупликацию, захватывающую районы 7q31.33q34, вследствие мейотической сегрегации инсерции у носителей в двух поколениях. Учитывая маленький размер инсертированного сегмента (< 1% HAL), выживаемость плодов с хромосомным дисбалансом является высокой и повторный риск рождения ребенка с несбалансированным хромосомным набором может достигать 50%.

Случай 2. Пациент, 1,6 лет, с неонатальными судорогами, обследован методом секвенирования ДНК (панель «Наследственные эпилепсии»). По итогам анализа покрытия (избыточности прочтения) секвенированных генов получены данные в пользу наличия дупликации сегмента хромосомы 2 с прибли-

зительными границами 152,955,143–177,017,680, захватывающей районы 2q23.3q31.1. FISH-исследование пробанда и его родителей с использованием цельнохромосомного ДНК-зонда на хромосому 2 не выявило межхромосомных инсерций и транслокаций. При стандартном цитогенетическом исследовании родителей пациента у отца обнаружена сбалансированная интрахромосомная инсерция сегмента длинного плеча хромосомы 2 (q23.3q31) в короткое плечо хромосомы 2 (p11.2). mBAND 2 позволил охарактеризовать инсерцию как инвертированную. В соответствии с происхождением рекомбинантной хромосомы 2 вследствие мейотической сегрегации внутривхромосомной инсерции хромосомы 2 отца, кариотип пациента определен: 46,XY,rec(2)dup(2q)inv ins(2)(p11.2q23.3q31)pat. Для носителей межплечевых, так называемых периферических, инсерций вероятность иметь ребенка с аномальной рекомбинантной хромосомой достаточно высокая и варьирует в пределах 15–50% [3, 4].

Несомненно, современные высокотехнологичные молекулярные методы исследования позволяют значительно расширить диагностическую возможность выявления геномного дисбаланса, но при этом не дают возможности установить, в каком именно месте генома располагается дополнительный материал. FISH-анализ помогает не только подтвердить наличие дублированного участка, но и идентифицировать его локализацию. Только комплексный подход в сочетании со стандартным цитогенетическим исследованием кариотипа, использованием молекулярно-генетических и молекулярно-цитогенетических методов позволяет пациентам получить полную качественную диагностику, установить природу хромосомной перестройки, а соответственно, повысить качество медико-генетического консультирования семьи для оценки прогноза потомства и определить тактику пренатальной или предимплантационной диагностики.

Литература

1. Kang S.H.L., Show C. Insertional translocation detected using FISH confirmation of array-comparative genomic hybridization (aCGH) results // *Am. J. Med. Genet.* 2010. V. 152A. P. 1111–1126.
2. Gardner R.J.M., Sutherland G.R. Chromosome abnormalities and genetic counseling. 4th ed. 2012. 634 p.
3. Madan K., Menko F.H. Intrachromosomal insertions: a case report and a review // *Hum. Genet.* 1992. V. 89. P. 1–9.
4. Friedrich U., Houman M. Microdissection of chromosome 2-between-arm intrachromosomal insertion // *Eur. J. Hum. Genet.* 2000. V. 8. P. 393–395.

НЕЙРОНАЛЬНЫЙ ЦЕРОИДНЫЙ ЛИПОФУСЦИНОЗ 2-го ТИПА (НЦЛ 2, НЕДОСТАТОЧНОСТЬ ТРИПЕПТИДИЛ ПЕПТИДАЗЫ 1, КЛАССИЧЕСКИЙ ВАРИАНТ ПОЗДНЕЙ МЛАДЕНЧЕСКОЙ ФОРМЫ НЦЛ 2-го ТИПА, БОЛЕЗНЬ ЯНСКОГО–БИЛЬШОВСКОГО, CLINCL)

С.В. Михайлова

Российская детская клиническая больница Минздрава России, г. Москва

Нейрональные цероидные липофусцинозы (НЦЛ) – наследственные нейродегенеративные заболевания, характеризующиеся эпилептическими приступами, резистентными к АЭТ, прогрессирующими нарушениями интеллектуального, двигательного развития, снижением зрения. Морфологическим

маркером НЦЛ является накопление патологического аутофлуоресцентного материала в головном мозге и других тканях.

Под нашим наблюдением находятся 14 пациентов с НЦЛ 2-го типа. Всем больным диагноз был подтвержден биохимическим (снижение активно-

сти лизосомальной трипептидилпептидазы) и молекулярно-генетическим методами. Среди обследованных нами больных возраст манифестации заболевания колебался от двух до четырех лет. Манифестными симптомами у 10 пациентов являлись генерализованные тонико-клонические приступы, задержка речевого развития, атаксия, у двух – задержка психоречевого развития и миоклонические приступы, у двух больных, наряду с нарушением ходьбы и неустойчивостью в позе Ромберга, отмечались интенционный тремор и дискоординация в руках. По мере прогрессирования заболевания у всех больных развивались другие типы эпилептических приступов (миоклонические, парциальные, диалептические), продолжалась утрата ранее приобретенных навыков, нарастали двигательные (парезы / параличи), мозжечковые и нервно-психические расстройства. В 40% случаев исследуемой группы НЦЛ 2-го типа при офтальмоскопии была зарегистрирована пигментная дегенерация сетчат-

ки, в 30% – частичная атрофия зрительных нервов, что совпадает с данными литературы. При КТ / МРТ головного мозга у всех больных с НЦЛ 2-го типа наблюдалась кортикальная атрофия головного мозга, у 1/3 обследованных нами больных – атрофия мозжечка различной степени выраженности. В 4 случаях было выявлено повышение интенсивности МР-сигнала в T2-взвешенном изображении в области перивентрикулярного белого вещества, что совпадает с данными литературы.

Немаловажное значение в проведении ранней дифференциальной диагностики заболеваний, ведущим клиническим синдромом которых является эпилептический синдром, играет электроэнцефалографическое исследование. В половине случаев отличительным электроэнцефалографическим паттерном нейронального цероидного липофуциноза 2-го типа является регистрация эпилептиформной активности в затылочных областях при фотостимуляции на 2,5–3 Гц (рис. 1, 2).

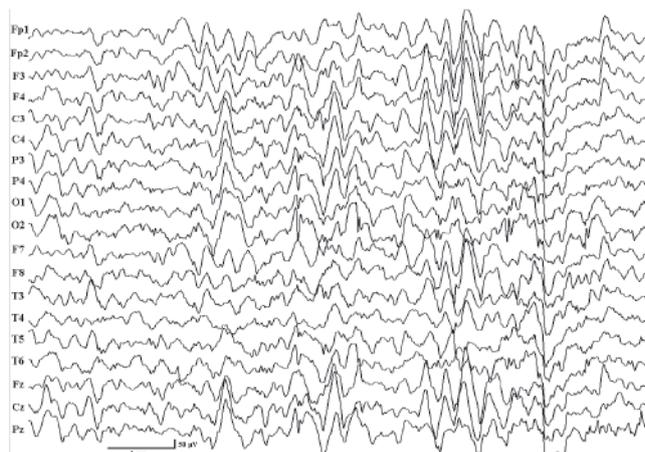


Рис. 1. Компьютерная электроэнцефалография больной С.О., 4,5 года. Диффузная и мультирегиональная эпилептиформная активность с акцентом в правой затылочной и левой лобно-центрально-височной областях



Рис. 2. Компьютерная электроэнцефалография больной С.О., 4,5 года. Провокация диффузной синхронизированной пик-волновой активности при низкочастотной ритмической фотостимуляции (2 Гц). Разряды преобладают в задних отделах и соответствуют частоте фотостимуляции

Дифференциальная диагностика данного заболевания представляет трудности в связи с редкой встречаемостью отдельных нозологических форм и наличием большого числа атипичных случаев. Иногда проходит несколько лет после манифестации болезни, прежде чем будет установлен правильный диагноз. Дифференциальная диагностика НЦЛ 2-го типа должна проводиться с группой НМЗ, протекающих с эпилепсией: Gm2

ганглиозидозом, болезнями Лафоры, Унфферихта–Лундборга.

В настоящее время улучшение понимания биохимических и молекулярных основ наследственных болезней обмена веществ привело к значительному прогрессу в области терапии данного заболевания. Ранняя диагностика является крайне важным критерием для назначения своевременного патогенетического лечения.

ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ РАЗЛИЧИЯ ПРИ МУКОПОЛИСАХАРИДОЗАХ IV И VI ТИПОВ

Л.П. Назаренко^{1, 2}

НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск
Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск

Мукополисахаридозы (МПС) – метаболические заболевания, связанные с нарушением функции лизосомных ферментов и накоплением в клетках гликозоаминогликанов. Выделяют семь основных типов МПС. При МПС I, II, VI и VII часто поражаются мягкие и скелетная ткани, а при тяжелых формах МПС I, II и VII – головной мозг. Скелетная система затронута при МПС IV типа, а центральная нервная система – при МПС III. Многообразие фенотипических проявлений заболевания создает определенные трудности для врача-генетика в своевременной диагностике разных типов и подтипов МПС. Например, в зависимости от типа МПС пациенты могут иметь нормальный интеллект или задержку психического развития с серьезными поведенческими проблемами [1].

Наиболее трудными для клинической диагностики являются мукополисахаридозы IVA, IVB и VI типов (таблица). Фенотипический спектр мукополисахаридоза IVA типа (МПС IVA) представляет собой континуум, который варьирует от тяжелой и быстро прогрессирующей формы с ранним началом до медленно прогрессирующей и манифестирующей в более позднем возрасте формы [2]. Дети с МПС IVA не имеют специфических клинических признаков заболевания при рождении. Тяжелая форма

обычно проявляется в возрасте от одного до трех лет, часто вначале проявляется как кифосколиоз, *genu valgum* и *pectus carinatum*. Медленно прогрессирующая форма может не проявиться до позднего детства или подросткового возраста. Часто впервые манифестирует как боли в тазобедренном и коленном суставах с подозрением на асептический некроз головки бедра (болезнь Легга–Пертеса). Пациенты с МПС IVA, как правило, имеют нормальные когнитивные способности. Прогрессирующее вовлечение костей и суставов приводит к замедлению роста и, в конечном итоге, к таким осложнениям, как боль и артрит. Вовлечение других систем органов может привести к обструктивному апноэ во сне, нарушению функции клапанов сердца, ухудшению слуха, помутнению роговицы и снижению остроты зрения, гепатомегалии. Компрессия спинного мозга является распространенным осложнением, которое приводит к неврологическим нарушениям. Мукополисахаридоз IVB типа (МПС IVB) по своим клиническим проявлениям наиболее близок к МПС IVA. Обычно он имеет менее выраженные признаки заболевания, и его точная диагностика возможна только при биохимическом и (или) молекулярно-генетическом тестировании (таблица).

Характеристика мукополисахаридозов IVA, IVB и VI типов

Признак	Тип мукополисахаридоза		
	IVA (синдром Моркио, тип А)	IVB (синдром Моркио, тип В)	VI (синдром Марото–Лами)
Тип наследования	Аутосомно-рецессивный		
МКБ–10	E76	E76	E76.2
ОМIM	253000	253010	253200
Распространенность среди новорожденных	1 : 71 000–1 000 000		1 : 40 000–1 500 000
Начало заболевания	1–3 года	1–3 года	Более 2 лет
Рост взрослого пациента	82–115 см	110–140 см, прекращение роста в 2–4 года	110–140 см, прекращение роста в 2–4 года
Отставание в росте из-за укороченного туловища	+	+	+
Макроцефалия	–	–	+
Умеренно «грубые» черты лица	+	+	+
Прогнатизм	+	+	–
Тугоухость	+	+	+
Глаукома	–	–	+
Помутнение роговицы	+	+	+
Запавшая переносица	–	–	+
Полные губы	–	–	+
Макроглотсия	–	–	+
Широкий рот	+	+	+
Широко расставленные зубы	+	+	+
Сероватая эмаль, частые кариесы	+	+	–
Поражение клапанов сердца (аортального, митрального)	+	+	+
Инфантильная кардиомиопатия	–	–	+

Окончание табл.

Признак	Тип мукополисахаридоза		
	IVA (синдром Моркио, тип А)	IVB (синдром Моркио, тип В)	VI (синдром Марото–Лами)
Утолщение интимы коронарных артерий	–	+	–
Частые инфекции верхних дыхательных путей	+	+	+
Широкие ребра	–	–	+
Выступающая грудина	+	+	+
Паховая грыжа	+	+	+
Пупочная грыжа	–	–	+
Гепатомегалия	+ умеренная	+ умеренная	+
Спленомегалия	–	–	+
Скелетная система	Остеопороз	Остеопороз	Множественный дизостоз
Нарушение развития костей черепа, крупный долихоцефальный череп	–	–	+
Поясничный лордоз	+	+	+
Передняя компрессия L ₁ L ₂ позвонков	–	–	+
«Яйцевидная форма» тел позвонков	+	+	+
Платиспондиллия (уплощение позвонков)	+	+	+
Дисплазия тазобедренных суставов	–	–	+
Сужение крыльев подвздошных костей	+	+	–
Недоразвитие вертлужной впадины	–	–	+
Маленькие, «расклеванные» подвздошные крылья	–	–	+
Асептический некроз головки бедренной кости	–	–	+
Тугоподвижность суставов конечностей	–	–	+ контрактуры в локтевых и коленных суставах
Избыточная подвижность суставов	+	+	–
Деформация коленного сустава с образованием угла между голенью и бедром, открытого кнаружи (genu valgum)	+	+	+
Эпифизарная дисплазия (утолщение эпифизов)	+	+	+
Широкие метафизы	+	+	+
Утолщение головки бедренной кости	–	–	+
Локтевое отклонение запястья	+	+	–
«Когтеобразный» вид пальцев руки	–	–	+
Рентгенологические изменения проксимальных концов метакарпальных костей	+	+	–
Гирсутизм	–	–	+ умеренный
Нормальный интеллект	+	+	+
Шейная миелопатия	+	+	+
Гидроцефалия	–	–	+
Туннельный синдром (кисти)	–	–	+
Ребенок не может поднять руки вверх, скованность движений в кистях рук	–	–	+
Изменение походки	«Утиная»	«Утиная»	Тенденция ходить на носках
Дефицит фермента	N-ацетилгалактозамин-6-сульфатазы	Бета-галактозидазы	Арилсульфатазы В
Мутации в гене фермента	GALNS	GLB1	ARSB
Лабораторные изменения: дефицит фермента в фибробластах и лейкоцитах	+	+	+
Выделение с мочой	Выделение кератансульфатов, с возрастом уменьшается хондроитин сульфат 6	Выделение кератансульфатов, с возрастом уменьшается	Выделение дерматансульфата
Пренатальная диагностика	+	+	+
Ферментзаместительная терапия	+	+	+

Мукополисахаридоз типа VI (MPC VI) также известен как синдром Марото–Лами (см. таблицу). Обычно первые симптомы заболевания проявляются не при рождении, а в раннем детском возрасте [3]. Фенотипические особенности пациентов с MPC IV включают особую форму головы (макроцефалия), гидроцефалию, характерные черты лица, которые описываются как «грубые», большой язык (макроглоссия). У больных часто развиваются аномалии клапанов сердца, гепатоспленомегалия, а также пупочная или паховая грыжа. Сужение дыхательных путей у некоторых пациентов с MPC VI приводит к частым инфекциям верхних дыхательных путей и апноэ во сне. Изменения со стороны роговицы могут вызвать значительное снижение остроты зрения. У пациентов с MPC VI диагностируют рецидивирующие инфекции уха и потерю слуха. Часто развиваются различные скелетные аномалии, включая деформации суставов (контрактуры), которые ограничивают двигательную активность пациентов. У индивидуумов с этим состоянием также могут быть мультиплексные дизостозы. Синдром запястного канала (карпальный туннельный синдром) развивается у многих детей с MPC VI и характеризуется оне-

мением, покалыванием и слабостью рук и пальцев. У пациентов может развиваться сужение позвоночного канала в области шеи, что приводит к сжатию и повреждению спинного мозга. В отличие от других типов мукополисахаридозов, при MPC VI интеллект сохранен.

В настоящее время кроме симптоматического лечения доступна специфическая ферментзаместительная терапия мукополисахаридозов IVA, IVB и VI типов. Ранняя постановка диагноза, тщательное наблюдение и назначение необходимого лечения позволяют не только улучшить качество жизни пациента с MPC, но и значительно ее продлить.

Литература

1. Khan S.A., Peracha H., Ballhausen D. et al. Epidemiology of mucopolysaccharidoses // *Mol. Genet. Metab.* 2017. V. 121, № 3. P. 227–240.
2. Khan S., Almeciga-Diaz C.J., Sawamoto K. et al. Mucopolysaccharidosis IVA and glycosaminoglycans // *Mol. Genet. Metab.* 2017. V. 120. P. 78–95.
3. Harmatz P., Shediak R. Mucopolysaccharidosis VI: pathophysiology, diagnosis and treatment // *Front. Biosci. (Landmark Ed).* 2017. V. 22. P. 385–406.

СЛУЧАЙ СИНДРОМА ЦЕЛЛВЕГЕРА

**А.М. Никонов¹, С.Н. Боронина², Е.В. Лазарева², И.В. Курдеко²,
Е.В. Ивченко², С.А. Алиева², Е.И. Чудосай², Е.Ю. Захарова³**

¹ *Диагностический центр Алтайского края, Медико-генетическая консультация, г. Барнаул*

² *Алтайская краевая клиническая детская больница, г. Барнаул*

³ *Медико-генетический научный центр, г. Москва*

Синдром Целлвегера (церебροгепаторенальный синдром; СЦ, МIM 214100) является аутосомно-рецессивным системным нарушением, характеризующимся клинически тяжелой неврологической дисфункцией, черепно-лицевыми аномалиями и дисфункцией печени. СЦ входит в обширную группу наследственных болезней пероксисом (НБП) – прогрессирующих заболеваний, возникающих в результате нарушения одной или нескольких функций пероксисом. Пациенты с классическим фенотипом СЦ умирают в течение первого года жизни. Суммарная частота заболеваний из группы пероксисомных болезней составляет 1 : 50 000 живых новорожденных. Нарушения биогенеза пероксисом при СЦ обусловлены мутациями в одном из 13 генов PEX, кодирующих пероксины [1].

Предположительный диагноз «синдром Целлвегера» ставится на основании фенотипических признаков. При «классическом» варианте СЦ с рождения наблюдаются краниофациальные дизморфии, изменения со стороны органов зрения, часто встречаются крипторхизм, гипоспадия / эписпадия. Практически у всех больных с СЦ наблюдается симптомокомплекс «вялого ребенка»: грубая задержка психомоторного развития. Другими частыми симптомами заболевания являются отсутствие реакции на окружающее, снижение слуха, нистагм, различные типы судорог, резистентных к адекватной антиэпилептической терапии, и патологический рефлекс

Моро. Неблагоприятный исход на первом году жизни от легочно-сердечной и печеночной недостаточности.

Биохимическая диагностика заключается в определении концентрации очень длинноцепочечных жирных кислот (ОДЦЖК) в плазме – гексакозановой (C26), а также значения соотношений тетракозановой (C24) и докозановой (C22) кислот (C24/C22), гексакозановой и докозановой (C26/C22), которые повышаются при всех НБП [2].

Эффективных методов лечения не разработано.

Нами наблюдался ребенок с синдромом Целлвегера – мальчик, от 2-й беременности, роды в 38 нед путем кесарева сечения. Масса тела при рождении – 3 050 г, длина – 50 см, окружность головы – 34 см, груди – 32 см, оценка по шкале Апгар – 7–8 баллов. Через сутки после рождения ребенок переведен в отделение реанимации в связи с появлением судорожной готовности. На 4-е сут жизни переведен в отделение патологии новорожденных. При поступлении состояние тяжелое, обусловлено преимущественно неврологической симптоматикой. Малые аномалии развития: гипертелоризм, экзофтальм, высокий лоб, высокое готическое небо, слабо развит плечевой пояс, плечи «покатые», аномальная дерматоглифика. На осмотр реакция низкая, угнетен, выраженная диффузная мышечная гипотония, гипорефлексия. Кожные покровы бледно-розовые, с субиктеричным

оттенком, цианоз носогубного треугольника. Печень +1,5 см, селезенка не увеличена. Стул желтый кашицеобразный, мочеиспускание не нарушено. На основании вышеизложенных признаков у ребенка заподозрен врожденный дефект обмена веществ.

По результатам тандемной масс-спектрометрии, выполненной в лаборатории НБО МГНЦ, данных за наследственные аминоацидопатии, органические ацидурии и дефекты митохондриального бета-окисления не выявлено. Кариотип: 46 XY.

На фоне лечения у ребенка в неврологическом статусе сохранялась выраженная диффузная мышечная гипотония, сухожильные рефлексы с рук

не вызываются, с ног резко снижены, каких-либо эмоций нет. Проведена ЭНМГ: функциональные блоки проведения на протяжении n. tibialis dex, n. tibialis sin, n. peroneus dex et sin, n. medianus dex et sin, n. ulnaris dex et sin. Размер печени увеличился (+2,5 см), выявлено повышение уровня ферментов – АЛТ, АСТ, КФК, ЛДГ, ГГТ.

Учитывая выраженную мышечную гипотонию и вышеизложенные признаки, появилось предположение о наличии у ребенка синдрома Целлвегера. В лаборатории НБО МГНЦ было проведено исследование ОДЦЖК, результаты которого представлены в таблице.

Результаты исследования ОДЦЖК

ОДЦЖК		C22	C24	C26	C24/C22	C26/C22
Концентрация, мМ/мл		40,8	50,3	9,6	1,233	0,235
Норма	Мин.	25,6	22,6	0,22	0,64	0,009
	Макс.	120,6	80	2,2	0,88	0,018

Обнаружена также фитановая кислота. Данные изменения могут быть обусловлены синдромом Целлвегера, бифункциональной недостаточностью белка.

В лаборатории НБО МГНЦ методом прямого автоматического секвенирования проведен анализ гена *PEX26* у пробанда и его родителей. Проанализированы 2 экзона гена и прилегающей к нему зоны сплайсинга. У пробанда валидированы мутации *PEX26*: NM_017929: с.134 Т>С (р.Л45Р) в гетерозиготном состоянии, описанная в международной базе по мутациям HGMD (CM032025) и делеция NM_017929: с.133_135delCTG в гетерозиготном состоянии. Мать пробанда является носительницей делеции NM_017929: с.133_135delCTG в гетерозиготном состоянии. Отец пробанда является носите-

лем мутации NM_017929: с.134 Т>С (р.Л45Р) в гетерозиготном состоянии.

В настоящее время ребенок находится под наблюдением. Родители планируют дальнейшее деторождение. Возможно проведение молекулярно-генетической пренатальной диагностики.

Литература

1. Peroxisome biogenesis disorder 1A (Zellweger); PBD1A <https://omim.org/entry/214100?search=214100&highlight=214100>.
2. Михайлова С.В., Захарова Е.Ю., Петрухин А.С. Нейрометаболические заболевания у детей и подростков: диагностика и подходы к лечению. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Литтерра, 2017. С. 272–297.

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ЦИТОХРОМА *CYP2D6* НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ С МУКОВИСЦИДОЗОМ, ГОМОЗИГОТНЫХ ПО МУТАЦИИ F508del ГЕНА *CFTR*

О.Г. Новоселова^{1,2}, Н.В. Петрова², С.А. Красовский³, Е.И. Кондратьева³

¹ Детская городская клиническая больница № 13 им. Н.Ф. Филатова Департамента здравоохранения города Москвы, г. Москва

² Медико-генетический научный центр, г. Москва

³ НИИ пульмонологии Минздрава России, г. Москва

Муковисцидоз (МВ) – системное наследственное заболевание, обусловленное мутацией гена трансмембранного регулятора муковисцидоза (*CFTR*), характеризуется поражением желез внешней секреции дыхательной, пищеварительной и других систем органов. Хроническая инфекция легких – следствие нарушения процесса мукоцилиарного клиренса при МВ, к доминирующим возбудителям относят *S. aureus*, *P. aeruginosa*, представителей неферментирующих микроорганизмов, MRSA, *Burkholderia cepacia complex*, *Achromobacter spp.* [1, 2]. Тяжесть клинических проявлений МВ обусловлена действием ряда факторов: типом мута-

ций гена *CFTR*, влиянием генов-модификаторов, факторов внешней среды, в том числе положительного и отрицательного эффекта от терапии [3, 4]. Мутация F508del гена *CFTR* является самой распространенной в большинстве популяций, в РФ доля пациентов с МВ, гомозиготных по F508del, составляет 30,3%, гетерозиготных – 44,5% [5]. Разумное использование антибиотиков для борьбы с инфекциями основывается на правильном выборе препарата и режима дозирования, чтобы обеспечить максимальный эффект терапии и свести к минимуму нежелательные побочные реакции [6–8]. Гены биотрансформации определяют индивидуальный

профиль метаболизма ксенобиотика в организме, существенно влияя на фармакодинамику и фармакокинетику антибактериального препарата [9].

Цель исследования – изучить влияние полиморфного варианта гена цитохрома P450, CYP2D6*4 (1846G>A) на эффективность антибактериальной терапии у пациентов с МВ, гомозиготных по мутации F508del гена CFTR.

Методы

В исследование включен 71 пациент с МВ, имеющий генотип F508del/F508del. Соотношение по полу 1,00 м : 1,09 ж (34 м : 37 ж). Возраст пациентов – от 5 мес до 40 лет (средний возраст – 14,47; Std – 9,97). Все обследованные проживают на территории европейской части РФ, 87,7% – в московском регионе.

Материалом для исследования являлась ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови стандартным методом. Изучение полиморфизма 1846G>A гена CYP2D6 проводили методом ПЦР и последующего ПДРФ анализа. Для оценки соответствия распределения генотипов ДНК-маркеров ожидаемым значениям при равновесии Харди–Вайнберга использовали критерий χ^2 Пирсона; для сравнения распределений частот аллелей и генотипов – точный критерий Фишера.

Результаты и обсуждение

Пациенты с носительством высокопатогенной микрофлоры верхних дыхательных путей статистически значимо чаще (≥ 2 раз в год) получают внутривенную антибактериальную терапию (АБТ) ($p < 0,001$), регулярные курсы азитромицина ($p < 0,002$) и системных глюкокортикостероидов ($p < 0,032$) в качестве противовоспалительной терапии. У пациентов, получающих внутривенную АБТ ≥ 2 раз в год, статистически значимо чаще развивается сахарный диабет ($p < 0,041$). При сравнении двух групп больных МВ (40 пациентов, получающих внутривенную АБТ ≥ 2 раз в год, и 31 пациент, получающий внутривенную АБТ эпизодически либо не получающий вовсе) установлено, что в группе больных с низкой частотой бронхолегочных обострений, не нуждающихся в повторных курсах внутривенной АБТ в течение года, чаще регистрируется аллель CYP2D6*4 ($p < 0,046$). При сравнении двух групп больных МВ (34 носителей высокопатогенной микрофлоры и 37 носителей этиологически незначимой микрофлоры) также отмечается более высокая частота регистрации медленных аллелей CYP2D6*4 в группе пациентов с носительством непатогенной флоры верхних дыхательных путей ($p < 0,02$). Данное наблюдение согласуется с утверждением, что при фенотипе «медленный метаболитизатор» терапевтический эффект может быть достигнут при более низких дозах лекарственного средства.

Заключение

Носительство аллеля CYP2D6*4 ассоциировано с благоприятным течением заболевания у пациентов с МВ, гомозиготных по F508del: для них характерны меньшая частота бронхолегочных обострений и более низкий риск хронической колонизации слизистой респираторного тракта высокопатогенной микрофлорой. Данный результат показывает необходимость принимать во внимание генетически детерминированный уровень метаболизма ксенобиотиков при определении режима дозирования антибактериальных препаратов у пациентов с МВ.

Работа выполнена при финансировании по теме «Совершенствование программ диагностики, лечения и медико-социальной адаптации больных муковисцидозом (2012–2019 гг.)» и частичном финансировании гранта РФФИ-Беларусь «Изучение полиморфных вариантов генов биотрансформации ксенобиотиков для оптимизации алгоритма подбора противомикробной химиотерапии при муковисцидозе» №16-54-00196.

Литература

- 1 Капранов Н.И., Каширская Н.Ю., Ашерова И.К. и др. Исторические и современные аспекты муковисцидоза в России // Педиатрическая фармакология. 2013. № 6. С. 53–60.
- 2 Gibson R.L., Burns J.L., Ramsey B.W. Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis // Am. J. Respir. Crit. Care. Med. 2003. V. 168 (8). P. 918–951.
- 3 Mishra A., Greaves R., Massie J. The relevance of sweat testing for the diagnosis of cystic fibrosis in the genomic era // Clin. Biochem. Rev. 2005. V. 26 (4). P. 135–153.
- 4 Koch C., Cuppens H., Rainisio M. et al. European Epidemiologic Registry of Cystic Fibrosis (ERCF): comparison of major disease manifestations between patients with different classes of mutations // Pediatr. Pulmonol. 2001. V. 31 (1). P. 1–12.
- 5 Красовский С.А., Черняк А.В., Кондратьева Е.И., Каширская Н.Ю. Муковисцидоз в России: создание национального регистра // Педиатрия. Журнал имени Г.Н. Сперанского: научно-практический двухмесячный медицинский журнал. 2014. Т. 93, № 4. С. 44–55.
- 6 Амелина Е.Л., Ашерова И.К., Волков И.К. и др. Проект национального консенсуса «Муковисцидоз: определение, диагностические критерии, терапия». Раздел «Ингаляционная терапия» // Вопросы современной педиатрии. 2014. № 6. С. 89–95.
- 7 Шагинян И.А., Капранов Н.И., Чернуха М.Ю. и др. Микробный пейзаж нижних дыхательных путей у различных возрастных групп детей, больных муковисцидозом // Журнал микробиологии, эпидемиологии и инфекционных болезней. 2009. Т. 5. С. 15–20.
- 8 Guss A.M., Roeselers G., Newton I.L.G. et al. Phylogenetic and metabolic diversity of bacteria associated with cystic fibrosis // The ISME Journal. 2011. V. 5 (1). P. 20–29.
- 9 Kisor D.F., Kane M.D., Talbot J.N., Sprague J.E. Introduction to Personalized Medicine // Pharmacogenetics, Kinetics, and Dynamics for Personalized Medicine. Burlington, MA: Jones & Bartlett Learning, 2014. P. 3–37.

РЕДКИЙ СЛУЧАЙ ТКАНЕВОГО МОЗАИЦИЗМА ПО Х-ХРОМОСОМЕ ПРИ СИНДРОМЕ ШЕРЕШЕВСКОГО–ТЕРНЕРА

Н.В. Опарина¹, Т.В. Маркова², С.Г. Калининкова¹

¹ Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, г. Москва

² Московский областной консультативно-диагностический центр для детей, г. Москва

Нами была обследована 9-месячная девочка с подозрением на синдром Шерешевского–Тернера. Ребенок от молодых, здоровых, 28-летних родителей; от 2-й беременности (1-я беременность – выкидыш в 12 нед), из монохориальной диамниотической двойни (1-й плод – гастрошизис, внутриутробная гибель), от первых преждевременных оперативных родов в сроке 33–34 нед. Вес при рождении – 1 120 г, длина тела – 40 см, окружность головы – 29 см, груди – 25 см, оценка по шкале Апгар – 6–7 баллов, родилась в тяжелом состоянии с задержкой внутриутробного развития 3-й степени, церебральной ишемией 2-й степени, лимфатическими отеками стоп. По данным ЭХО-КГ-МАРС (ООО, 2 ДХЛЖ): правосторонняя паховая грыжа.

Фенотип в возрасте 3 мес: двусторонний эпикант, короткая шея, укорочение конечностей за счет проксимальных отделов, широкая грудная клетка, сосконовый гипертелоризм, втянутые соски, пастозность стоп, неправильный рост ногтей (наружу). В дальнейшем отмечались мышечная гипотония, задержка темпов моторного развития: голову держит с 3 мес, переворачивается с 5 мес, встает на четвереньки с 7,5 мес, с 9,5 мес ползает по-пластунски. Отставание в росте: в 9 мес вес – 6 800 г, рост – 66 см.

Синдром Шерешевского–Тернера был заподозрен в роддоме, но в связи с тяжелым состоянием ребенка цитогенетический анализ не проводился. После осмотра генетиком был назначен и проведен стандартный цитогенетический анализ (СЦИ) из 72-часовой культуры ФГА-стимулированных лимфоцитов периферической крови. Все 11 метафаз имели нормальный женский кариотип: 46,XX. Учитывая высокую вероятность мозаичных вариантов кариотипа при этом синдроме, было принято решение увеличить выборку исследуемых метафаз. В конечном итоге был проанализирован 71 митоз и выявлены 3 клетки с моносомией по X-хромосоме (mos45,X[3]/46,XX[68]). Подобный низкий (4%) уровень мозаицизма не позволяет поставить диагноз и требует обязательного подтверждения как на прямом препарате из лимфоцитов (для исключения

культуральных ошибок), так и на клетках другой ткани для выявления тканевого мозаицизма.

Молекулярно-цитогенетический анализ (флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH)) с ДНК-зондом на центромерный район X-хромосомы (СЕР X (Xp11.1-q11.1); Vysis, Abbott на интерфазных ядрах лимфоцитов периферической крови подтвердил наличие мозаичной линии 45,X и выявил ее уровень как 12,5% (nuc ish Xcen(DXZ1x1)[14]/Xcen(DXZ1x2)[98]). Для изучения тканевого мозаицизма был получен соскоб клеток буккального эпителия, на которых также проведен FISH с зондом СЕР X (Xp11.1-q11.1); Vysis, Abbott. Распределение сигналов в клетках буккального эпителия следующее: nuc ish Xcen(DXZ1x1)[310]/Xcen(DXZ1x2)[16]. Таким образом, 95% клеток буккального эпителия представлены линией с моносомией по X-хромосоме.

Пациентке был поставлен диагноз «синдром Шерешевского–Тернера» в мозаичном варианте с выраженным различием представленности моносомии по X-хромосоме в разных тканях. Рекомендованы дополнительные обследования и наблюдение у узкопрофильных специалистов: эндокринолога, детского гинеколога, невролога, окулиста, кардиолога, эхокардиографическое исследование в динамике, ультразвуковое исследование почек, ежегодное наблюдение у генетика. По показаниям – своевременная заместительная терапия соматотропином и эстрогенами. К сожалению, нам не доступны другие ткани для изучения распределения анеуплоидного клона, однако ярко выраженные фенотипические признаки синдрома Шерешевского–Тернера больше соответствуют распределению мозаичных линий в буккальном эпителии. Данный случай еще раз подтверждает необходимость индивидуального подхода к каждому случаю несовпадения «фенотип / генотип», использования нескольких методов и тканей для исследований, тесного сотрудничества между клиническим генетиком и лабораторией для выработки правильной стратегии ведения обследования и коррекции этой стратегии в ходе исследования, если это необходимо.

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЙ АНАЛИЗ СЛУЧАЕВ СИНДРОМА РЕТТА

О.В. Овсова, Н.В. Никитина, Е.Б. Николаева, М.Г. Сумина,
О.В. Корякина, А.О. Максимова, Е.А. Моричева

Уральский государственный медицинский университет, г. Екатеринбург

Клинико-диагностический центр «Охрана здоровья матери и ребенка», г. Екатеринбург

Синдром Ретта (RTT) – одно из наиболее распространенных заболеваний в ряду наследственных форм умственной отсталости у девочек (ОМИМ: 312750) [1]. Синдром в основном встречается у де-

вочек: его частота составляет 1 : 10 000 – 1 : 15 000. В настоящее время мутации в гене *MESP2* рассматриваются как основная причина возникновения синдрома [2]. Тип наследования – X-сцепленный доми-

нантный с летальностью для гемизиготных плодов мужского пола.

Целью настоящего исследования явился анализ клинико-лабораторных данных пациенток с синдромом Ретта.

Материалы и методы

Нами диагностировано 17 случаев синдрома Ретта у девочек, наблюдающихся в клинико-диагностическом центре «Охрана здоровья матери и ребенка». Протокол исследования включал: осмотры генетика, невролога, данные молекулярно-генетической диагностики (ФертиЛаб, НИКИ педиатрии, молекулярно-цитогенетическая лаборатория института, г. Москва), цитогенетического исследования, тандемной масс-спектрометрии (ГБУЗ СО КДЦ ОЗМР), данные параклинических исследований (ЭЭГ, МРТ, ЭКГ). Статистическая обработка проводилась методом вариационной статистики с использованием программы Microsoft Excel, пакета программ Statistica for Windows, версия 6.0, Microsoft Office Excel 2007 for Windows.

Результаты

В исследуемой группе пациенток средний возраст постановки диагноза синдрома Ретта составил 5 лет 4 мес ($5,32 \pm 2,85$). Средний возраст дебюта заболевания приходится на 8 мес ($8 \pm 0,32$). Ранние проявления болезни включали задержку статико-моторного и психо-речевого развития – 71%, $n = 12$. Половина пациенток в дебюте демонстрировали утрату навыков (способность держать голову, сидеть, стоять) – 53% ($n = 9$). У большинства больных девочек отмечалась мышечная гипотония – 82%, $n = 14$. Прослеживается стадийность синдрома Ретта у всех пациенток в данной выборке. В первую стадию попадают 2 исследуемых случая (13%), во второй стадии – 11 случаев (64%) и в третьей стадии – 4 исследуемых пациентки (23%). Клинические особенности исследуемых девочек оценивались по диагностическим критериям Rett Syndrome Diagnostic Criteria Work Group (1988). Результаты представлены в таблице.

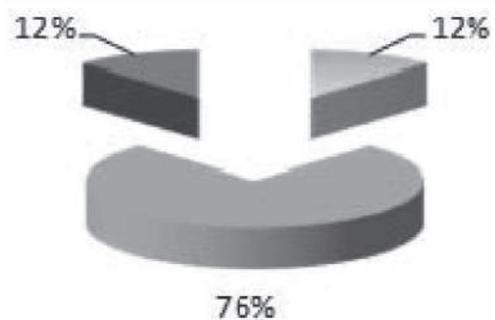
Диагностические критерии синдрома Ретта

Клинический признак	Количество больных	
	<i>n</i>	%
Задержка статико-моторного развития	15	88
Задержка речевого развития (апалия)	17	100
Стереотипные движения	15	88
Двигательные расстройства	16	94
Эпилепсия	11	64
Аутизм	11	64
Глазодвигательные расстройства	7	41

Как видно из таблицы, у всех пациенток грубая задержка речевого развития, проявляющаяся преимущественно сенсорно-моторной апалией, в речи

только слоги, ограниченное количество слов с последующей их утратой. У 88% девочек – отставание в статико-моторном развитии, при этом 72% детей на момент исследования самостоятельно не ходят, спастический тетрапарез сформировался у 18%. Больные с синдромом Ретта позже начали сидеть, стоять и ходить. К концу первого года жизни отмечаются первые признаки задержки моторного развития, регресс приобретенных навыков. Почти у всех пациенток регистрируются множественные стереотипные движения – 94%, с преобладанием характерных для синдрома Ретта «моющих» движений. Больше половины случаев сопровождается эпилептическими приступами, треть из них носит генерализованный характер, резистентны к АЭП. У 55% приступы сопровождались изменениями на ЭЭГ: мультирегионарная активность, грубые изменения ЭЭГ с патологическим феноменом волна-подавление, эпилептический очаг в левой теменной доле, в центрально-височной области. Среди других клинических проявлений в неврологическом статусе больных отмечались: вегетативные расстройства – 77%, атаксия – 24%, глазодвигательные нарушения (страбизм) – 35%, бруксизм – 17%. У большинства девочек выражена задержка физического развития – 88%. Нарушения поведения аутистического спектра наблюдаются у 64% пациенток. Нейровизуализация (МРТ головного мозга) была проведена 13 пациенткам, при этом изменения выявлены у 69% исследованных: у 5 девочек отмечена гидроцефалия (29%), у 3 – перивентрикулярная лейкоэнцефалопатия (17%), у 4 – признаки церебральной атрофии. У 41% пациенток сформировалась приобретенная микроцефалия, что является характерным для синдрома Ретта, средний показатель окружности головы – ($47,06 \pm 1,98$) см.

Анализ показал, что 100% исследованных случаев являются спорадическими и обусловлены мутациями *de novo* в гене *MECP2* (рисунок). У 76% больных ($n = 13$) обнаружены нонсенс-мутации в 4-м экзоне гена *MECP2*, включая C808C->T, p.R270X, c502c->T R168X; у 13% пациенток – делеции гена *MECP2*, клинически проявляются гораздо тяжелее типичной нонсенс-мутации; у 6% ($n = 1$) точковая мутация выявлена в 3-м экзоне гена *MECP2* (chrX:153296777G>A).



- протяженные делеции
- нонсенс-мутации
- миссенс-мутации

Спектр мутаций, выявленных у пациенток при синдроме Ретта

Таким образом, в проанализированной выборке у пациенток отмечается типичное течение данного синдрома, соответствующее клиническим критериям диагностики синдрома Ретта. По данным молекулярно-генетического исследования, наиболее часто у больных зарегистрирована нонсенс-мутация в 4-м экзоне гена MECP2, которая обуславливает типичное клиническое течение – 76%, у 13% обнаружена делеция, приводящая к более тяжелому клиническому течению синдрома. В клинической картине у большинства пациенток отмечаются стереотипные движения, алалия, аутистиподобные нарушения

поведения. Больше половины случаев синдрома Ретта сопровождаются дистрофическими изменениями в головном мозге.

Литература

1. Hagberg B., Aicordi J., Dias K., Ramos O. A progressive syndrome of autism, dementia, ataxia and loss of purposeful hand use in girls: Rett's syndrome. Report of 35 cases // *Ann. Neurol.* 1983. № 14. P. 471–479.
2. Мухин К.Ю., Карпова В.И., Безрукова И.С. и др. Синдром Ретта (обзор литературы и описание клинического случая) // *Русский журнал детской неврологии.* 2010. Т. 5 (2). С. 43–52.

СЛОЖНОСТИ ДИАГНОСТИКИ НЕТИПИЧНЫХ ФОРМ МУКОВИСЦИДОЗА

В.В. Петрова¹, Л.П. Назаренко^{1,2}, Г.Н. Сеитова¹, М.Н. Филимонова¹,
Л.И. Диденко¹, В.М. Сивоха¹, О.Н. Одиноква¹, Н.В. Петрова³, И.И. Смирнова¹,
О.В. Лежнина¹, А.Ю. Беляева¹, А.А. Агафонова¹

¹ НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

² Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск

³ Медико-генетический научный центр, г. Москва

Муковисцидоз (МВ) – наследственное аутосомно-рецессивное заболевание, которое характеризуется нарушением транспорта ионов хлора через апикальную мембрану клеток в результате мутации гена *CFTR*. Данное заболевание встречается практически во всех этнических группах населения с частотой от 1 : 2 500 до 1 : 9 550. Классический МВ проявляется в детском возрасте и характеризуется хроническим заболеванием легких, синуситами, носовыми полипами, недостаточностью поджелудочной железы, диареей, стеатореей и отставанием в весе, росте, мекониальным илеусом, ректальным пролапсом и повышением концентрации натрия и хлора в поте. Пациенты с умеренными или атипичными симптомами МВ представляют диагностическую проблему для клиницистов. Качество жизни таких больных значительно снижается в результате неправильного или поздно поставленного диагноза и лечения.

Атипичный МВ является мягкой формой расстройства. Лица с нетипичным проявлением МВ обычно имеют одну серьезную мутацию гена *CFTR*, у них реже выявляют изменения нуклеотидной последовательности, занимающие по своему значению промежуточное положение между полиморфизмом и «мягкой» мутацией. Например, таким полиморфным вариантом является IVS8-T-полиморфизм в 8-м интроне гена *CFTR*. Пациенты с нетипичной формой МВ могут иметь дисфункции в одной системе органов в более легкой форме, чем те, у которых выявлены две тяжелые мутации. У данных пациентов наблюдается повышение и (или) нормальный уровень хлоридов пота. В результате эти пациенты реже госпитализируются по поводу заболевания в детском возрасте, чем те, у которых имеет место классический МВ. Диагноз остается не поставленным в течение многих лет или иногда правильный диагноз ставится уже во взрослой жизни. Со временем у больных с нетипичным МВ могут развиваться дополнительные симптомы, или другие пред-

варительно существующие проблемы со здоровьем являются симптомами МВ, которые не были надлежащим образом идентифицированы в качестве таковых ранее.

Дыхательная система является основной системой, поражение которой врачи связывают с МВ. В классической форме пациенты, начиная с детства, страдают от хронических и рецидивирующих инфекций дыхательных путей, носовых полипов, бронхоэктазов и симптомов прогрессирующей обструкции дыхательных путей. При атипичном МВ респираторные симптомы часто являются более мягкими и могут начаться в подростковом или зрелом возрасте, но все они включают рецидивирующую пневмонию, прогрессирующую обструкцию дыхательных путей, что, возможно, диагностируется как бронхиальная астма или хроническое обструктивное заболевание легких, хронический синусит или назальный полипоз. Желудочно-кишечные симптомы классического МВ включают экзокринную недостаточность поджелудочной железы, стеаторею, дефицит жирорастворимых витаминов, отставание в весе, цирроз печени, портальную гипертензию и ректальный пролапс. При атипичном проявлении МВ нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта могут быть незначительными. Они включают хронический запор или диарею, хронический или рецидивирующий панкреатит с мягкими или отсутствующими симптомами поражения желудочно-кишечного тракта и респираторными заболеваниями. Эндокринная дисфункция поджелудочной железы может быть первичной при МВ. Электролитные нарушения у пациентов с МВ характеризуются в первую очередь гипохлоремией, гипокалиемией и метаболическим алкалозом, которые наиболее часто встречаются при обезвоживании или тепловом ударе. Для мужчин подозрение на МВ может возникнуть после нахождения азооспермии при анализе спермы в результате врожденного двустороннего отсутствия семявыносящего протока. Данная патология обнаруживается приблизительно

у 98% мужчин с классическим МВ. Женщины с МВ, как правило, без нарушения репродуктивной функции, но имеют большие трудности с зачатием. Чаще всего это связано с вязкостью цервикальной слизи, хотя есть работы, показывающие снижение овариального резерва. Другие, менее распространенные признаки МВ включают вторичный дерматит из-за дефицита питательных веществ, раннее образование морщин, васкулит.

Под нашим наблюдением в генетической клинике института находилась пациентка 3., 12 лет. Развитие ребенка и прибавка в весе были в соответствии с возрастом. Здоровье ребенка до 2 лет родителей не беспокоило. Однако с первого дня жизни у ребенка периодически были боли в кишечнике и запор. С 2-летнего возраста ребенок регулярно наблюдался у отоларинголога по поводу гипертрофии аденоидов II–III степени. С 6-летнего возраста – неоднократно рецидивирующие инфекции нижних и верхних дыхательных путей, хронические синуситы. Компьютерная томография легких показала интерстициальное поражение легочной ткани, которое было больше выражено в верхних отделах легких. Спирометрия зафиксировала вентиляционные нарушения легкой степени. Компьютерная томография придаточных пазух выявила левосторонний полипозный фронтит, этмоидит, двусторонний гайморит, сфеноидит, утол-

щение слизистой носа. Посев отделяемого из носа обнаружил золотистый стафилококк. Результаты тестирования хлоридов пота позитивны для МВ (от 118 до 127 ммоль/л). При обследовании изменений со стороны желудочно-кишечного тракта не отмечено (запоров нет, стеаторея не отмечена, уровень эластазы-1 в стуле в норме). Дополнительно проведенное молекулярно-генетическое тестирование выявило гетерозиготную мутацию в гене *CFTR 2143delT*, вторая мутация не найдена. Возможно, вторая мутация относится к «мягким» мутациям. Из литературы известно, что «мягкие» мутации доминируют над «тяжелыми» в отношении поражения поджелудочной железы, что сказывается на особенностях клиники.

В случае нетипичного МВ важно диагностировать данное заболевание как можно раньше и предложить адекватную терапию. Кроме того, тщательное наблюдение специалистами может помочь предупредить осложнения и обострения. Наконец, знания, полученные о заболевании, помогут пациенту понять его симптомы, изменить свой образ жизни, чтобы оптимизировать здоровье, уменьшить частоту осложнений, а также получить консультации по вопросам планирования семьи, когда это необходимо. Таким образом, индивидуализация диагностики и лечения имеет решающее значение для улучшения качества жизни пациента.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА МОНОГЕННЫХ ФОРМ САХАРНОГО ДИАБЕТА У ДЕТЕЙ

М.Е. Туркунова¹, Е.Б. Башнина², Л.А. Желенина¹, Т.Э. Иващенко³, О.С. Глозов³,
А.С. Глозов³, Л.В. Дитковская¹, Е.Н. Суспицын¹, Е.А. Серебрякова³, О.С. Берсенева²,
Е.С. Шабанова³, Л.В. Тыртова¹, Ю.Л. Скородок¹, Е.Р. Досовицкая⁴, Н.Н. Лобанова¹,
Д.А. Тыртова¹, К.В. Скобелева¹, М.А. Полянская⁴, Ф.З. Цораева⁴, Т.Е. Корытко⁴,
Т.А. Дубинина⁴, В.В. Платонов⁴, Н.Ю. Швед^{3, 5, 6}, О.В. Романова⁵,
М.А. Федяков⁵, А.М. Сарана^{5, 6}, В.С. Баранов³

¹ Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет Минздрава России, г. Санкт-Петербург

² Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова Минздрава России, г. Санкт-Петербург

³ НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, г. Санкт-Петербург

⁴ Детская городская больница № 19 им. К.А. Раухфуса, г. Санкт-Петербург

⁵ Городская больница № 40, г. Санкт-Петербург

⁶ Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург

Моногенные формы сахарного диабета (МСД) у детей представляют интерес в связи с особенностями лечения и прогностически отличными от иммуноопосредованных форм СД исходами. Истинная распространенность МСД неизвестна, что определено сложностью диагностики и редкостью данной патологии [1]. По данным мировой статистики, частота моногенных форм СД среди всех случаев диабета составляет 1–4% [2]. Однако ряд исследователей предполагают, что частота МСД, вероятно, выше [3].

Цель данного исследования – определить частоту встречаемости и молекулярно-генетические характеристики моногенных форм сахарного диабета у детей – жителей г. Санкт-Петербурга в возрасте от 0 до 18 лет.

Материалы и методы

В исследование были включены пациенты с СД, манифестировавшим в возрасте первых 6 мес жизни, а также группа пациентов с «мягким» течением СД (отсутствие диабетического кетоацидоза, отсутствие или минимальная потребность в инсулине), сохраненной секрецией инсулина, отсутствием диабетогенных аутоантител. При исследовании ДНК пациентов использовался метод полноэкзомного секвенирования. Для изучения кодирующих регионов генов МСД были разработаны NGS диагностические панели, включающие следующие гены: *HNF1A*, *GCK*, *HNF4A*, *HNF1B*, *PDX1*, *NEUROD1*, *KLF11*, *CEL*, *PAX4*, *INS*, *BLK*, *EIF2AK3*, *RFX6*, *WFS1*, *ZFP57*, *FOXP3*, *KCNJ11*, *ABCC8*, *GLUD1*, *HADH* (*SCHAD*),

SLC16A1, UCP2, INSR, AKT2, GCG, GCGR, PPARG, PTF1A. Приготовление библиотек экзомной ДНК осуществляли с помощью набора TruSeq Exome Library Prep Kit или его аналогов. Контроль качества полученных библиотек проводили с помощью капиллярного электрофореза на системе QIAxcel (QIAGEN). Готовые библиотеки секвенировали на системе высокопроизводительного секвенирования Illumina HiSeq 2500 в режиме парноконцевого секвенирования 2 x 100 (набор TruSeq SBS Kit v3 - HS (200-cycles)), или 2 x 125 (набор HiSeq® SBS Kit v4 (250 cycles)), т.е. по 100 или 125 нуклеотидов с каждого конца фрагмента. После демультиплексирования и перевода результатов секвенирования в формат fastq в программе bcl2fastq получали отдельные группы файлов в формате fastq для каждого образца. Эти файлы использовали для дальнейшего биоинформатического анализа. Биоинформационный фильтринг результатов секвенирования образцов ДНК проводили с помощью программ: GeneTalk (<https://www.gene-talk.de/>), UGENE (<http://ugene.unipro.ru/>), Ion Reporter (<https://ionreporter.lifetechnologies.com/ionreporter/>), SIFT (<http://sift.jcvi.org/>), PolyPhen2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>), PAPI (<http://papi.unipr.it/>). Для ранжирования вариантов использована оригинальная ранее разработанная метрика, учитывающая следующие данные:

– тип замены (синонимичная, несинонимичная, нонсенс и др.);

– эффект данной замены согласно программ PROVEAN, SIFT и Polyphen2;

– частота встречаемости данной замены в базах «1 000 геномов», ExAC (Exome Aggregation Consortium), ESP6500;

– частота данной замены в исследуемой когорте.

Метрика разработана в соответствии с рекомендациями Американского колледжа медицинских генетиков (ACMG). Разработанный собственный протокол анализа данных существенно повышал качество анализа (исключает ошибки референса) и увеличивал выявляемость. Верификацию полученных данных проводили методом прямого секвенирования на приборе Genetic Analyzer 3130 (Applied Biosystems, США).

Результаты

Были исследованы образцы ДНК 72 пациентов с подозрением на наличие МСД. МСД был подтвержден у 51% ($n = 37$). Наиболее часто встречались мутации в гене *GCK* – 39% ($n = 23$), у 3 пациентов выявлены патогенные мутации в нескольких генах – 4%, *HNF1A* – 2,7% ($n = 2$), *WFS* – 12,7% ($n = 2$), *EIF2AK3* – 2,7% ($n = 2$), *PAX4* – 1,4% ($n = 1$), *GATA6* – 1,4% ($n = 1$), *FOXP3* – 1,4% ($n = 1$), *KCNJ11* – 1,4% ($n = 1$), *ABCC8* – 1,4% ($n = 1$). Результаты проведенного молекулярно-генетического исследования позволили изменить терапевтическую тактику одному пациенту, предпринята попытка перевода с инъекций инсулина на препараты сульфонилмочевины; в 25% случаев удалось избежать инициации лечения препаратами инсулина.

Заключение

Частота встречаемости моногенных форм СД в детском возрасте в группе пациентов с неиммунными формами заболевания достаточно высока, составляет 51%. Молекулярно-генетическая верификация диагноза позволяет прогнозировать течение заболевания и вносить коррективы в лечение СД. Генетическая гетерогенность обнаруженных мутаций при сходной клинической картине заболевания у детей с СД определяет необходимость данного вида диагностики.

Часть обследования была проведена при поддержке фонда поддержки и развития филантропии «КАФ» в рамках программы «Альфа-Эндо».

Литература

- Сахарный диабет. Многообразие клинических форм / под ред. И.И. Дедова, М.В. Шестаковой. М.: Медицинское информационное агентство, 2016. 224 с.
- Rubio-Cabezas O., Hattersley A.T., Njolstad P.R. et al. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2014 Compendium. The diagnosis and management of monogenic diabetes in children and adolescents // *Pediatric Diabetes*. 2014. V. 15 (Suppl. 20). P. 47–64.
- Shepherd B., Shields B., Hammersley S. et al. Systematic population screening using biomarkers and genetic testing, identifies 2.5% of the UK pediatric diabetes population with monogenic diabetes // *Diabetes care*. 2016. V. 39. P. 1879–1888.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА ПРИ МУКОВИСЦИДОЗЕ У ДЕТЕЙ

Г.Н. Янкина¹, Е.И. Кондратьева^{1,2}, Е.В. Лошкова¹, Д.Ф. Сергиенко³

¹ Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск

² Медико-генетический научный центр, г. Москва

³ Астраханская государственная медицинская академия, г. Астрахань

Хронический микробно-воспалительный процесс при муковисцидозе (МВ) обуславливает тяжесть течения заболевания и полиорганность поражения. Существует мнение, что воспаление при МВ поддерживается за счет дисбаланса про- и противовоспалительных цитокинов.

Цель данного исследования – определить состояние цитокинового воспаления, функциональной активности и структурно-метаболического статуса

моноцитов-макрофагов при МВ, а также влияние полиморфизмов гена *IL1B* (rs1143634), *IL1RN* (VNTR), *IL4* (rs2243291), *IL4RA* (rs1805010), *IFNG* (rs2069705) на развитие заболевания.

Материалы и методы

Обследованы 82 больных с МВ. Контрольную группу для проведения генетических исследова-

ний составил 91 человек. Определение уровня продукции цитокинов проводили методом ИФА, для определения функциональной активности макрофагов использовали монослой этих клеток на стекле. Для выявления C_3b -рецепторов на поверхности моноцитов крови использовали метод EAC- (C_3b) и EA-(Fcy)-розеткообразования. Поиск ассоциации полиморфизмов гена *IL1B*, *IL1RN*, *IL4*, *IL4RA*, *IFNG* с MB, вариантами клинического течения выполнялся с помощью метода случай-контроль. Генотипирование полиморфных маркеров изучаемых генов осуществляли с помощью ПЦР и ПДРФ-анализа.

Результаты

Исследование выявило высокое содержание провоспалительных цитокинов IL-1 β ($p = 0,01$), TNF- α ($p = 0,001$) и снижение IL-1Ra ($p = 0,001$) по сравнению с контролем, при MB у детей. Уровень IL-10 в сыворотке крови был статистически значимо ниже у детей с легкой степенью тяжести MB, в отличие от среднетяжелой ($p < 0,05$) и тяжелой степени тяжести заболевания ($p < 0,03$), а также при легочной форме MB. Показано, что моноциты (Mн) и макрофаги (Mф) у больных с MB на стимуляцию бактериальным агентом (ЛПС-комплексом) продуцируют IL-4, запускающий Th2-путь иммунного ответа, ответственный за развитие аллергических реакций. Одновременно за счет снижения содержания IFN- γ ослабевает Th1-путь иммунного ответа. Для больных MB с бронхо-

эктазами характерно повышение IL-1 β в сыворотке крови ($p < 0,04$) на фоне снижения спонтанной и стимулированной продукции IL-10 Mн и Mф крови ($p < 0,04$). При стимуляции ЛПС-комплексом уровень IL-1 β ($p = 0,05$) и TNF- α ($p = 0,029$) был выше при тяжелом течении заболевания. Отмечено снижение экспрессии C_3b - и Fcy-рецепторов Mн и Mф ($p < 0,001$) по сравнению с клетками здоровых детей. Для детей с тяжелым течением MB была характерна низкая экспрессия C_3b -рецепторов Mн и Mф ($p = 0,043$) по сравнению с показателями при среднетяжелом течении заболевания. При этом фагоцитарная функция Mн и Mф и суммарный показатель люминесценции Mф были повышены у 33 и 38% больных соответственно, что отражало реакцию на хронический инфекционный процесс.

При сравнении частот аллелей изученных полиморфизмов между контрольной группой и выборкой больных MB выявлена ассоциация заболевания с аллелем A2 полиморфизма VNTR гена *IL1RN* ($OR = 1,73$ (95% CI: 1,05–2,86, $\chi^2 = 4,68$, $p = 0,03$)) и полиморфизмом rs2069705 гена *IFNG* ($OR = 1,77$ (95% CI: 1,12–6,33, $\chi^2 = 5,03$, $p = 0,025$)).

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о плохо контролируемом воспалительном процессе в организме больных с MB по причине дисбаланса между про- и противовоспалительными цитокинами.

Раздел 10

МАТЕРИАЛЫ СПОНСОРОВ КОНФЕРЕНЦИИ

ИССЛЕДОВАНИЕ И АНАЛИЗ ТОНКОЙ СТРУКТУРЫ ГЕНА НА БАЗЕ ГЕНОМНОЙ ВРЕМЯПРОЛЕТНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ. ПРИМЕНЕНИЕ АППАРАТНОГО КОМПЛЕКСА MassARRAY В НАУЧНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

А.Г. Афанасьев

ООО «Биоген-Аналитика», г. Москва

Количественное генотипирование и количественное метилирование являются основными методическими приемами для изучения нуклеотидной последовательности. Прочтение и установление последовательностей в соответствующих позициях (SNP), копииности гена (CNV) необходимы для получения полноценных репрезентативных результатов как в фундаментальных научных исследованиях, так и в клинической практике.

На современном рынке предлагаемых инструментальных решений существует целый ряд приборов для достижения поставленных целей, который включает Real Time амплификаторы, способные охватить до четырех точек в одной лунке, и секвенаторы нового поколения.

Метод геномного масс-спектрометрического анализа стоит несколько в стороне от упомянутых выше решений. Применение масс-спектрометра позволяет сфокусироваться, с одной стороны, исключительно на количественном прочтении целевого

фрагмента, с другой стороны, осуществить анализ большого количества интересующих исследователя данных: до нескольких сотен тысяч SNP при самой низкой себестоимости. Вместе с тем эталонная чувствительность геномного масс-спектрометра позволяет идентифицировать масс-ампликоны в мультиплексном пуле путем сравнения их с референсной базой данных с последующим прочтением SNP и количественным аллельным анализом.

Существующие на сегодня готовые решения по генетическому анализу позволяют производить исследования практически во всех сферах, связанных с персонифицированной медициной: онкология, сердечно-сосудистые заболевания, трансплантология и трансфузиология и фундаментальные научные клинические исследования в целом. На базе системы MassARRAY от компании Agena Bioscience (США) решаются пользовательские практические и исследовательские задачи благодаря открытости системы и возможности самостоятельной разработки эксперимента.

КЛЕТочНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ В ДОПОЛНЕНИЕ К ГЕНЕТИЧЕСКИМ ИССЛЕДОВАНИЯМ: ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ И ВЗАИМОПРОНИКНОВЕНИЕ ТЕХНОЛОГИЙ

И.Н. Дёмин

ЗАО «БиоХимМак», МГУ, г. Москва

Понимание метаболических процессов очень важно в современных биологических исследованиях. Изучение метаболизма и клеточной биоэнергетики становится неотъемлемой частью в ряде научных и прикладных направлений. Например, известно, что раковые клетки для получения АТФ в большей степени используют анаэробный гликолиз, чем окислительное фосфорилирование, при сердечной недостаточности клетки могут быть лучше защищены от ишемического повреждения за счет перехода от кислородного дыхания к гликолитическим процессам. В процессе взросления и старения наблюдаются изменения в биоэнергетическом профиле клеток. Эти изменения, а также возможность их регуляции позволяют глубже понимать основные механизмы функционирования клеток и применять новые терапевтические подходы при лечении многих заболеваний.

Всего 5–10 лет назад заинтересованность в изучении биоэнергетики находилась в зачаточном состоянии. Все потому, что митохондрии рассматривались только как фабрики для производства АТФ. И очень немногие имели представления о фундаментальной роли митохондрий в поддержании общего статуса клетки, роли продукции АТФ в поддержании ключевых жизненных сил клетки, ключевой роли

внутренних мембран митохондрий в функционировании клеток. Сейчас глубокое внимание приковано к изучению роли митохондрий в процессах дифференцировки клеток, старения и апоптоза и ряде опасных заболеваний, таких как рак, сердечно-сосудистая недостаточность, нейродегенеративные и метаболические расстройства.

Технология Seahorse Bioscience в настоящий момент признана золотым стандартом в изучении клеточного метаболизма и биоэнергетических процессов. Анализ проводится в формате микропланшетов на живых клетках в режиме реального времени. В каждой лунке микропланшета одновременно происходит измерение двух важнейших показателей: скорости поглощения кислорода (что позволяет характеризовать процессы митохондриального дыхания) и закисления клеточной культуральной среды протонами (что дает представление о протекании процессов гликолиза в клетках). К тому же реализована возможность добавлять до 4 препаратов в реакционную среду прямо во время анализа. Таким образом, в режиме реального времени можно оценить метаболический фенотип клеток и его изменение под воздействием тех или иных факторов или препаратов.

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ.....	3
Раздел 1. ОЧЕРКИ ОБ ИСТОРИИ НАУЧНЫХ ПОДРАЗДЕЛЕНИЙ ИНСТИТУТА	4
Назаренко М.С. Лаборатория популяционной генетики: вчера и сегодня.....	4
Назаренко С.А. История лаборатории цитогенетики НИИ медицинской генетики.....	6
Лебедев И.Н. 100 трудов лаборатории цитогенетики НИИ медицинской генетики	9
Назаренко Л.П. Лаборатории наследственной патологии – 28 лет	22
Степанов В.А. Лаборатория эволюционной генетики НИИ медицинской генетики. История, достижения, перспективы	24
Раздел 2. ПОПУЛЯЦИОННАЯ И ЭВОЛЮЦИОННАЯ ГЕНЕТИКА	44
Вагайцева К.В., Марков А.В., GenomeAsia 100K Consortium, Харьков В.Н., Степанов В.А. Полногеномный поиск генетических маркеров адаптации к условиям среды в популяциях Сибири.....	44
Дамба Л.Д., Монгуш Б.Б., Агджоян А.Т., Жабагин М.К., Юсупов Ю.М., Богунов Ю.В., Сабитов Ж.М., Чухряева М.И., Балаганская О.А., Дибирова Х.Д., Романов А.Г., Схаляхо Р.А., Кузнецова М.А., Кагазежева Ж.А., Альборова И.Е., Лавряшина М.Б., Кавай-оол У.Н., Балановская Е.В., Балановский О.П. Структура генофонда трех тувинских родов по данным о полиморфизме SNP-маркеров Y-хромосомы	45
Ельчинова Г.И., Макаев А.Х-М., Биканов Р.А., Петрин А.Н., Зинченко Р.А. Временная динамика частот ряда абазинских фамилий	46
Имекина Д.О., Падюкова А.Д., Агджоян А.Т., Балаганская О.А., Схаляхо Р.А., Юсупов Ю.М., Сабитов Ж.М., Лавряшина М.Б., Балановская Е.В., Балановский О.П. Структура генофондов тоболо-иртышских и барабинских татар по данным о полиморфизме Y-хромосомы	47
Козлов А.И., Вершубская Г.Г. Антропологические подходы к прогнозу рисков генетически детерминированных заболеваний.....	48
Лавряшина М.Б., Ульянова М.В., Поддубиков В.В., Минина В.И., Мейер А.В., Ларионов А.В., Толочко Т.А., Понасенко А.В., Мулерева Т.А., Дружинин В.Г. Мониторинг сельских популяций шорцев и телеутов: воспроизводство, среда, гены	49
Лузина Ф.А., Дорошилова А.В., Казицкая А.С., Гуляева О.Н., Ядыкина Т.К. Анализ полиморфизма генов ферментов детоксикации ксенобиотиков (<i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i>) у населения Кемеровской области.....	51
Малярчук Б.А., Деренко М.В. Полиморфизм генов кальциевых каналов <i>TRPV5</i> и <i>TRPV6</i> в популяциях Сибири	52
Попович А.А., Степанов В.А., Вагайцева К.В., Бочарова А.В. Связь генетической структуры популяций человека с географическими и климатическими параметрами.....	54
Смольникова М.В., Епанешникова В.Б., Зобова С.Н., Тюменцева Д.И., Терещенко С.Ю. Полиморфизм гена L-фиколина (<i>FCN2</i>) в арктических популяциях России	55
Ульянова М.В., Лавряшина М.Б., Тычинских З.А. Факторы популяционной динамики в территориальных группах сибирских татар	56
Харьков В.Н., Колесников Н.А., Раджабов М.О., Хитринская И.Ю., Степанов В.А. Генофонд коренных народов Дагестана андийской группы по аутомным STR-маркерам	58
Харьков В.Н., Новикова Л.М., Штыгашева О.В., Волков В.Г., Хитринская И.Ю., Степанов В.А. Анализ родоплеменной структуры хакасов по маркерам Y-хромосомы	59
Раздел 3. ГЕНЕТИКА МНОГОФАКТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ	61
Агеева Е.С., Штыгашева О.В. Распространенность полиморфных вариантов генов интерлейкинов <i>IL1B</i> (+3953)C/T и <i>TNFA</i> (-308)G/A у хакасов и европеоидов при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки	61
Алиахунова М.Ю., Нурутдинова С.К., Хакимова Р.А., Исламова Д. Н., Хан Т.А. Роль антигенов системы HLA класса I в развитии псориатического артрита	62
Бабушкина Н.П., Брагина Е.Ю., Гараева А.Ф., Гончарова И.А., Цитриков Д.Ю., Гомбоева Д.Е., Рудко А.А., Фрейдин М.Б. Генетическая предрасположенность к развитию латентной туберкулезной инфекции.....	63
Барышев А.С., Косинова Е.И., Запесоцкая С.Я., Барышева Е.М., Полоников А.В., Бушуева О.Ю. Исследование взаимосвязи полиморфизма -1306 C/T (rs243865) гена <i>MMP2</i> с риском развития ишемической болезни сердца у русских жителей Центральной России.....	65
Бочарова А.В., Марусин А.В., Макеева О.А., Степанов В.А., Жукова И.А., Жукова Н.Г., Алифирова В.М. Поиск генетических вариантов, связанных с нарушениями когнитивных функций человека при болезни Альцгеймера.....	66

Брагина Е.Ю., Бабушкина Н.П., Жалсанова И.Ж., Фрейдин М.Б., Гараева А.Ф., Колоколова О.В., Пузырев В.П. Межгенные взаимодействия при бронхиальной астме и туберкулезе легких.....	68
Бушуева О.Ю., Полоников А.В., Солодилова М.А., Вялых Е.К., Иванов В.П. Полиморфизм -21С> Т гена каталазы ассоциирован с развитием артериальной гипертензии.....	69
Гарганеева А.А., Александренко В.А., Кужелева Е.А., Муслимова Э.Ф., Афанасьев С.А. Полиморфизм Т1565С гена <i>ITGB3</i> при повторных инфарктах миокарда у пациентов разных возрастных групп	70
Гималова Г.Ф., Карунас А.С., Гуменная Э.Р., Хантимерова Э.Ф., Загидуллин Ш.З., Хуснутдинова Э.К. Исследование роли полиморфных вариантов генов цитокинов в развитии аллергодерматозов в Республике Башкортостан	72
Глотов А.С., Глотов О.С., Барбитов Ю.А., Серебрякова Е.А., Предеус А.В., Полев Д.Е., Шувалова А.Р., Насыхова Ю.А., Сарана А.М., Щербак С.Г., Баранов В.С. Экзомное секвенирование пациентов с наследственными и мультифакторными заболеваниями	73
Голубенко М.В. Роль полиморфизма митохондриальной ДНК в возникновении и развитии сердечно-сосудистых заболеваний.....	74
Гомбоева С.Б., Лугачева Ю.В., Кулагина И.В., Рябов В.В. Неблагоприятные варианты генов факторов системы гемостаза у пациентов с острым коронарным синдромом при необструктивном коронарном атеросклерозе	75
Гончарова И.А., Печерина Т.Б., Марков А.В., Кашталап В.В., Тарасенко Н.В., Барбараш О.Л., Пузырев В.П. Вклад генов фиброгенеза в изменчивость эхокардиографических параметров миокарда у больных ИБС в зависимости от тяжести течения заболевания.....	77
Гуткевич Е.В., Гуткевич Е.А. Расстройства психического здоровья многофакторной природы в пробиотической модели адаптации.....	78
Иванова А.А., Максимов В.Н., Малютина С.К., Савченко С.В., Новоселов В.П., Воевода М.И. Однонуклеотидные полиморфизмы rs12170546 гена <i>PARVB</i> , rs16994849 гена <i>PLCB1</i> , rs78143315 гена <i>PDCD6IP</i> и внезапная сердечная смерть: исследование случай–контроль.....	80
Королева Ю.А., Назаренко М.С., Марков А.В., Казанцев А.Н., Барбараш О.Л. Анализ уровня метилирования в области промоторов генов <i>MIR10B</i> и <i>MIR21</i> при клинически выраженном атеросклерозе сонных артерий.....	81
Куртанов Х.А., Павлова Н.И., Филиппова Н.П., Апсолихова Г.А., Додохов В.В., Соловьева Н.А. Молекулярно-генетический анализ маркера RS738409 гена адипонутрина (<i>PNPLA3</i>) в популяции Якутов	82
Кучер А.Н. Ген-средовые взаимодействия как основа популяционно-специфичных ассоциаций полиморфных вариантов генов с многофакторными заболеваниями	84
Макеева О.А., Степанов В.А. Вариабельность когнитивных функций в пожилом возрасте: как диагностировать болезнь Альцгеймера?.....	85
Марусин А.В., Макеева О.А., Вагайцева К.В., Бочарова А.В., Сваровская М.Г., Степанов В.А. Ассоциации и межгенные взаимодействия 61 полиморфного варианта генов подверженности к нейropsychическим расстройствам с вариабельностью когнитивных способностей пожилых людей	86
Матвеева Н.П., Полтавская Е.Г., Сухомясова А.Л., Хоютанова Н.В. Ассоциации полиморфизмов 86 С>Т (rs6311) гена серотонинового рецептора <i>HTR2A</i> , А>С (rs2271537) гена триптофан-2,3-диоксигеназы (триптофанпирролазы) <i>TDO2</i> с алкоголизмом и нарушениями эмоциональной сферы при алкоголизме у коренных жителей Республики Саха (Якутия).....	87
Назаренко М.С., Слепцов А.А., Марков А.В., Королева Ю.А., Казанцев А.Н., Барбараш О.Л., Пузырёв В.П. Структурная и эпигенетическая вариабельность генома клеток сосудов и лейкоцитов при атеросклеротическом поражении артерий	89
Назарова Л.Ш., Данилко К.В., Малиевский В.А., Викторова Т.В. Взаимосвязь полиморфизма генов цитокинов и тяжести течения ювенильного идиопатического артрита	90
Насибуллин Т.Р., Тимашева Я.Р., Туктарова И.А., Эрдман В.В., Шеин М.Ю., Мустафина О.Е. Анализ ассоциаций сочетаний полиморфных ДНК маркеров иммунного ответа с инфарктом миокарда	91
Некипелова Е.В., Сиротина С.С. Исследование ассоциаций полиморфных вариантов ряда генов-кандидатов с развитием хронической болезни почек.	92
Османова Д.З., Бойко А.С., Федоренко О.Ю., Пожидаев И.В., Фрейдин М.Б., Корнетова Е.Г., Иванова С.А., Wilfert В., Loonen А. J.M. Ассоциация полиморфных вариантов генов дофаминовых рецепторов и транспортеров с развитием нейролептической гиперпролактинемии у пациентов с шизофренией	93
Понасенко А.В., Хуторная М.В., Цепочкина А.В., Жидкова И.И., Барбараш О.Л. Ассоциации полиморфных вариантов гена <i>VDR</i> с ишемической болезнью сердца.....	94
Пушкарева А.Э., Хусаинова Р.И., Миннихметова К.И., Миннихметов И.Р., Хуснутдинова Э.К. Изучение роли рецептора трансформирующего фактора роста бета 1 (<i>TGFβR1</i>) при различных типах ремоделирования сердца	96

Пчелина С.Н. Генетические и биохимические маркеры болезни Паркинсона.....	97
Сереброва В.Н., Трифонова Е.А., Степанов В.А. Эволюционно-генетический анализ роли регуляторных участков гена <i>NDRG1</i> в формировании структуры наследственной предрасположенности к преэклампсии в популяциях различного этнического происхождения.....	98
Слепцов А.А., Назаренко М.С., Скрябин Н.А., Денисов Е.В., Таширева Л.А., Лебедев И.Н., Пузырёв В.П. Структурная вариабельность генома макрофагов и гладкомышечных клеток в атеросклеротических бляшках коронарных артерий.....	99
Солдатов В.О., Солдатова В.А., Бушуева О.Ю. Гипоксия-индуцибельный фактор: физиологическая роль и взаимосвязь с развитием мультифакториальной патологии.....	100
Султанова Р.И., Хусаинова Р.И., Лебедева Е.Р., Хуснутдинова Э.К. Молекулярно-генетическое исследование интракраниальных аневризм у населения Волго-Уральского региона России.....	101
Тарасенко Н.В., Гончарова И.А., Марков А.В., Пузырёв В.П. Связь полиморфизма гена <i>MTAP</i> с риском развития осложнений сахарного диабета 1 и 2-го типов.....	103
Тигунцев В.В., Семке А.В. Ассоциация полиморфных вариантов генов триптофангидроксилазы с клинической картиной шизофрении.....	104
Трифорова Е.А., Габидулина Т.В., Сереброва В.Н., Ершов Н.И., Степанов В.А. Интегрированный анализ геномных и транскриптомных данных для идентификации новых генетических маркеров преэклампсии.....	105
Тюрин А.В., Шаповалова Д.А., Хусаинова Р.И. Клинико-генетическое исследование коморбидности остеоартроза и дисплазии соединительной ткани у женщин из Республики Башкортостан.....	106
Шаповалова Д.А., Тюрин А.В., Литвинов С.С., Хусаинова Р.И. Поиск молекулярно-генетических маркеров остеоартроза.....	107
Эрдман В.В., Насибуллин Т.Р., Туктарова И.А., Мустафина О.Е. Дифференциальная экспрессия генов M-TOR-сигнального пути при старении и здоровом долголетии.....	109
Раздел 4. ОНКОГЕНЕТИКА.....	111
Айбулатова А.Ф., Прокофьева Д.С. Роль полиморфного варианта rs28362491 в гене <i>NFKB1</i> в патогенезе рака яичников у женщин из Республики Башкортостан.....	111
Ануфрак И.А., Саприна Т.В., Чернышова А.Л. Перспективы изучения антинеопластических эффектов метформина в клинической практике.....	111
Баканова М.Л., Минина В.И., Тимофеева А.А., Головина Т.А., Савченко Я.А., Рыжкова А.В., Титов Р.А., Асанов М.А., Титов В.А., Вафин И.А. Цитогенетические нарушения в лимфоцитах крови больных раком легкого.....	112
Барышева Е.М., Барышев А.С., Полишведкина О.Б., Кудрявцева О.К., Бушуева О.Ю. Исследование взаимосвязи полиморфизма -1607 1G/2G (rs1799750) гена <i>MMP1</i> с риском развития миомы матки у русских женщин Центральной России.....	114
Бермишева М.А., Тахирова З.Р., Хуснутдинова Э.К. Полиморфные варианты в генах мРНК и рак молочной железы.....	115
Владимирова Е.И., Мингажева Э.Т., Прокофьева Д.С. Анализ ассоциаций полиморфных локусов rs7517847 и rs10889677 в гене <i>IL23R</i> с риском развития рака яичников.....	117
Возилова А.В. Диагностика хронических лейкозов с применением методов молекулярной цитогенетики. Особенности методологии.....	117
Денисов Е.В., Панкова О.В., Геращенко Т.С., Таширева Л.А., Гервас П.А., Пономарёва А.А., Скрябин Н.А., Слепцов А.А., Перельмутер В.М. Модель прерывистого развития предопухолевых изменений в бронхиальном эпителии: генетические и клинические наблюдения.....	119
Кайгородова Е.В., Перельмутер В.М., Чойнзонов Е.Л. Частота встречаемости полисомии хромосомы 17 в зависимости от менструальной функции больных раком молочной железы с различным Her2/neu статусом.....	120
Климентова Е.А., Гилязова И.Р., Султанов И.М., Павлов В.Н., Хуснутдинова Э.К. Анализ изменений нуклеотидной последовательности в гене-супрессоре опухолевого роста <i>PBRM1</i> у пациентов со светлоклеточным раком почки.....	122
Кунсбаева Г.Б., Гилязова И.Р., Мустафин А.Т., Сафиуллин Р.И., Павлов В.Н., Хуснутдинова Э.К. Поиск мутаций в гене-супрессоре опухоли <i>TP53</i> у пациентов с раком предстательной железы.....	123
Литвяков Н.В., Ибрагимова М.К., Цыганов М.М., Дорошенко А.В., Казанцева П.В., Чердынцева Н.В., Слонимская Е.М. Метастатические клоны опухоли молочной железы.....	124
Маркович В.А., Тузиков С.А., Литвяков Н.В., Попова Н.О. Персонализированная интраперитонеальная химиотерапия в комбинированном лечении диссеминированного рака желудка.....	125
Мингажева Э.Т., Прокофьева Д.С., Сакаева Д.Д., Хуснутдинова Э.К. Анализ ассоциации полиморфного варианта rs1946518 в гене <i>IL18</i> с риском развития рака яичников.....	127

Москалев Е.А., Буре И.В., Геер С., Кнопф Я., Хартманн А., Халлер Ф., Лебедев И.Н. Онкогенная нкРНК NOTA1R обеспечивает генную специфичность профилей метилирования ДНК при гастроинтестинальных стромальных опухолях	128
Орлов Д.С., Рязанцева Н.В., Степоява Е.А., Носарева О.Л., Шахристова Е.В., Иванов В.В. Роль N-этилмалеимида в управлении апоптозом опухолевых клеток линии P19.....	129
Пушкарев В.П., Возилова А.В. Пилотное исследование вариаций в гене <i>TP53</i> у женщин, больных раком молочной железы, из когорты р. Теча.....	130
Спирина Л.В., Тарасенко Н.В., Горбунов А.К., Кондакова И.В., Слонимская Е.М., Усынин Е.А. Экспрессия молекулярных маркеров в ткани рака предстательной железы: связь с клинико-морфологическими параметрами.....	130
Угаров И., Черных В., Новоселова О., Шаркова И., Шарков А., Иванов Н. Использование сервиса xGenCloud для автоматической клинической интерпретации результатов NGS по онкогенетике.....	131
Раздел 5. ЭПИДЕМИОЛОГИЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА МОНОГЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ	132
Адян Т.А., Степанова А.А., Красовский С.А., Поляков А.В. Особенности спектра мутаций в гене <i>CFTR</i> у российских больных муковисцидозом	132
Ахметова В.Л., Хусаинова Р.И., Литвинов С.С., Хуснутдинова Э.К. Анализ гетерозиготного носительства мутаций p.Arg408Trp, p.Arg261Gln и p.Arg261X гена фенилаланингидроксилазы (<i>PAH</i>) в популяциях Евразии.....	133
Балашова М.С., Жученко Н.А., Глотов О.С., Глотов А.С., Полякова И.В., Федяков М.А., Романова О.В., Апалько С.В., Сарана А.С., Щербак С.Г., Горбунова А.В., Тулузановская И.Г., Филимонов М.И., Соловьева О.В., Розина Т.П., Игнатова Т.М., Асанов А.Ю. Молекулярно-генетические взаимодействия при болезни Вильсона–Коновалова.....	134
Баязутдинова Г.М., Щагина О.А., Поляков А.В. Изучение спектра мутаций в гене <i>ATP7B</i> у российских пациентов с диагнозом «болезнь Вильсона–Коновалова».....	136
Бескоровая Т.С., Миловидова Т.Б., Щагина О.А., Поляков А.В. Сложные случаи в молекулярной диагностике гемофилии А.....	137
Булах М.В., Полякова Д.А., Рыжкова О.П., Поляков А.В. Разработка подходов к молекулярной диагностике саркогликанопатий.....	138
Гундорова П., Зинченко Р.А., Степанова А.А., Кузнецова И.А., Поляков А.В. Молекулярно-генетические особенности гиперфенилаланинемий в Карачаево-Черкесской Республике.....	139
Гурьева П.И., Петухова Д.А., Сухомясова А.Л., Гуринова Е.Е., Николаева И.А., Иванова Р.Н., Ноев Д.Д., Афанасьев А.А., Кузнецов А.А., Васильев Ф.Ф., Максимова Н.Р. Идентификация новой мутации в гене <i>CLN6</i> , ответственной за возникновение нейронального цероидного липофусциноза 6-го типа в Якутии.....	140
Еникеева Р.Р., Лобов С.Л., Загидуллина А.Ш., Зайдуллин И.С., Джемилева Л.У., Хуснутдинова Э.К. Поиск структурных изменений в генах <i>CYP1B1</i> и <i>PITX2</i> у пациентов с первичной врожденной и первичной открытоугольной глаукомой	141
Иванова Е.А., Хлебникова О.В., Рыжкова О.П., Поляков А.В. Принципы формирования панели генов наследственных заболеваний органа зрения	142
Кадникова В.А., Рыжкова О.П., Руденская Г.Е., Поляков А.В. Наследственная спастическая параплегия на территории Российской Федерации.....	143
Кадышев В.В., Галкина В.А., Куцев С.И., Гинтер Е.К., Зинченко Р.А. Анализ спектра изолированной наследственной офтальмологической патологии в Зеленчукском и Урупском районах Карачаево-Черкесской Республики	144
Максимова А.А. Наследственная энзимопеническая метгемоглобинемия первого типа в Якутии.....	145
Максимова Н., Кондо Х., Отото Т., Гуринова Е., Сухомясова А., Като Х., Имаи А., Асано Е., Кабаяши К., Ноджима С., Накая А., Yusuke Hatada, Каори Ишихара, Ноговицына А., Саевина М., Эшимори Т., Озоно К., Сакаи Н. Новый тип мукополисахаридоза с тяжелыми клиническими проявлениями у якутов, вызванный мутацией в гене <i>VPS33A</i>	146
Миронович О.Л., Близначев Е.А., Маркова Т.Г., Рыжкова О.П., Поляков А.В. Поиск причин наследственной тугоухости с использованием метода массового параллельного секвенирования.....	147
Одинокоева О.Н., Назаренко Л.П. Новая сплайсинговая мутация гена <i>CFTR</i> при муковисцидозе	147
Рыжкова О.П., Логинова А.Н., Комарова Н.В., Булах М.В., Полякова Д.А., Поляков А.В. Поиск причин поясно-конечностных мышечных дистрофий методом массового параллельного секвенирования	149
Сермягина И.Г., Поляков А.В. Молекулярно-генетический анализ прогрессирующей оссифицирующей фибродисплазии у российских пациентов.....	150
Хидиятова И.И., Хидиятова И.М., Азнабаев М.Т., Хуснутдинова Э.К. Молекулярно-генетическое исследование врожденной изолированной катаракты в Республике Башкортостан.....	151

<i>Хидиятова И.М., Ахметгалеева А.Ф., Янкина М.А., Сайфуллина Е.В., Идрисова Р.Ф., Шавалиева В.В., Магжанов Р.В., Хуснутдинова Э.К.</i> Молекулярно-генетическое исследование наследственных спастических параличей в Республике Башкортостан	152
<i>Хусаинова Р.И., Надыршина Д.Д., Габидуллина А.Р., Хуснутдинова Э.К.</i> Генетическая архитектура незавершенного остеогенеза в России.....	154
<i>Щагина О.А., Поляков А.В., Дадали Е.Л., Миловидова Т.Б., Федотов В.П.</i> Клинико-генетическое разнообразие периферических нейропатий с сочетанной патологией. Результаты полноэкзомных методов диагностики	155
<i>Яковлева А.Е., Сухомясова А.Л., Максимова Н.Р., Данилова А.Л., Пономарева С.И., Гуринова Е.Е., Иванова Р.Н.</i> Множественная экзостозная хондродисплазия в Республике Саха (Якутия).....	156
Раздел 6. ЦИТОГЕНЕТИКА	158
<i>Беляева Е.О., Кашеварова А.А., Скрябин Н.А., Лопаткина М.Е., Салюкова О.А., Филимонова М.Н., Ложнина О.В., Шорина А.Р., Масленников А.Б., Назаренко Л.П., Лебедев И.Н.</i> Клиническая и генетическая характеристика пациентов с недифференцированными интеллектуальными нарушениями и хромосомными микродупликациями	159
<i>Кашеварова А.А., Скрябин Н.А., Беляева Е.О., Никонов А.М., Плотникова О.В., Никитина Т.В., Мензоров А.Г., Васильев С.А., Лопаткина М.Е., Толмачёва Е.Н., Назаренко Л.П., Лебедев И.Н.</i> Элиминация кольцевой хромосомы как основа коррекции крупных хромосомных дефектов.....	159
<i>Лебедев И.Н.</i> Новые хромосомные болезни	160
<i>Лопаткина М.Е., Кашеварова А.А., Назаренко Л.П., Четчикова Н.Н., Скрябин Н.А., Салюкова О.А., Филимонова М.Н., Рудко А.А., Яковлева Ю.С., Возк С.Л., Лебедев И.Н.</i> Клинико-генетическая характеристика двух новых случаев синдрома микроделеции 15q24 у пациентов с недифференцированной умственной отсталостью	161
<i>Скрябин Н.А., Васильев С.А., Толмачёва Е.Н., Шорина А.Р., Лебедев И.Н.</i> Эпигенетические модификации ДНК при неполной пенетрантности CNV-обусловленной умственной отсталости	163
<i>Слепухина А.А., Скрябин Н.А., Кашеварова А.А., Новикова М.А., Лифшиц Г.И., Лебедев И.Н.</i> Aгау-CGH в диагностике геномных болезней у детей с врожденными пороками сердца и экстракардиальной патологией	164
<i>Твеленёва А.А., Мусатова Е.В., Маркова Ж.Г., Шилова Н.В.</i> Полногеномная амплификация генетического материала единичных клеток цитотрофобласта в рамках модельного эксперимента по обнаружению численных хромосомных аномалий плода	165
<i>Телепова А.С., Романенко С.А., Лемская Н.А., Максимова Ю.В., Шорина А.Р., Фергюсон-Смит М.А., Юдкин Д.В.</i> Молекулярно-цитогенетическое исследование маркерных хромосом у пациентов с интеллектуальной недостаточностью	166
<i>Толмачёва Е.Н., Скрябин Н.А., Сеитова Г.Н., Суханова Н.Н., Черемных А.Д., Назаренко Л.П., Лебедев И.Н.</i> Влияние инактивации X-хромосомы на фенотипические проявления транслокаций X;аутосома.....	167
<i>Трофимова И.Л., Енукашвили Н.И., Горбунова А.В., Вашукова Е.С., Кузнецова Т.В., Баранов В.С.</i> Транскрипция и трехмерная организация сателлитной ДНК в эмбриональных и экстраэмбриональных тканях человека.....	169
<i>Шилова Н.В.</i> Аутосомные реципрокные транслокации: пренатальная селекция, сегрегация и оценка эмпирического риска рождения жизнеспособного ребенка с хромосомным дисбалансом при семейном носительстве	170
<i>Юдкин Д.В., Тулупов А.А., Грищенко И.В., Лемская Н.А., Дольский А.А., Максимова Ю.В., Шорина А.Р., Савелов А.А., Исанова Е.Р., Антонов А.А., Колесникова И.С.</i> Молекулярно-генетическое и МРТ-исследование пациентов с синдромом ломкой X-хромосомы	171
Раздел 7. ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ГЕНЕТИКА	173
<i>Васильев С.А., Агаб А.В., Беленко А.А., Савченко Р.Р., Скрябин Н.А., Слепцов А.А., Фишман В.С., Грибова О.В., Сухих Л.Г., Сухих Е.С., Старцева Ж.А., Серов О.Л., Лебедев И.Н.</i> Цитогенетические и экспрессионные маркеры индивидуальной радиочувствительности человека.....	173
<i>Вокина В.А., Соседова Л.М., Капустина Е.А.</i> Оценка уровня повреждения ДНК в клетках головного мозга и семенников у крыс после свинцовой интоксикации и их потомства первого и второго поколений.....	174
<i>Волобаев В.П.</i> Чувствительность генома работников угольных шахт, страдающих профессиональной легочной патологией, и ее связь с полиморфными вариантами генов некоторых защитных механизмов легких	175
<i>Дружинин В.Г., Мацкова Л.В., Волобаев В.П., Ларионов А.В.</i> Состав респираторной микрофлоры как фактор модификации мутагенеза в соматических клетках человека	177

<i>Исубакова Д.С., Литвяков Н.В., Халюзова М.В., Брониковская Е.В., Усова Т.В., Карпов А.Б., Тахауов Р.М.</i> Цитогенетические аномалии в лимфоцитах крови у работников ядерного производства, подвергавшихся ионизирующему излучению низкой интенсивности.....	178
<i>Минина В.И., Кулемин Ю.Е., Савченко Я.А., Тимофеева А.А., Головина Т.А., Баканова М.Л., Рыжкова А.В., Волобаев В.П., Дружинин В.Г., Вафин И.А.</i> Повреждения хромосом в лимфоцитах крови у шахтеров Кемеровской области.....	179
<i>Никифоров В.С.</i> Экспрессия гена <i>BCL-2</i> у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию	181
<i>Толочко Т.А., Мейер А.В., Минина В.И., Соболева О.А., Литвин А.В.</i> Роль полиморфизмов генов антиоксидантной защиты в формировании цитогенетического статуса шахтеров с профессиональными легочными патологиями.....	181
Раздел 8. ПРЕНАТАЛЬНАЯ И ПРЕИМПЛАНТАЦИОННАЯ ДИАГНОСТИКА. ГЕНЕТИКА РЕПРОДУКЦИИ	183
<i>Жигалина Д.И., Скрябин Н.А., Канбекова О.Р., Артюхова В.Г., Светлаков А.В., Лебедев И.Н.</i> Сравнительная цитогенетика трофобласта и внутренней клеточной массы на основе данных молекулярного кариотипирования внеклеточной ДНК в полости бластоцисты.....	183
<i>Кардымон О.Л., Померанцева Е.А., Ветрова Н.В., Шахтарин В.В., Исеев А.А.</i> Клинические результаты трехлетнего опыта проведения неинвазивной пренатальной диагностики хромосомной патологии плода по технологии Prenetix (Harmony).....	184
<i>Корф М.П., Сеитова Г.Н., Вовк С.Л., Назаренко Л.П., Филиппова М.О., Заюкова О.С., Пурьскина Н.Л., Диденко Л.И., Луканина О.Б., Торхова Н.Б., Яковлева Ю.С., Суханова Н.Н.</i> Результаты реализации мероприятий по пренатальной (дородовой) диагностике нарушений развития ребенка в Томской области.....	185
<i>Михальчук В.В., Созонова Н.С., Чернова А.Л.</i> Состояние пренатальной диагностики хромосомной патологии в Тюменской области (по данным областного перинатального центра)	187
<i>Мусатова Е.В., Софронова Я.В., Биканов Р.А., Померанцева Е.А.</i> Результаты преимплантационной генетической диагностики хромосомных аномалий эмбрионов как основание для уточнения кариотипа пациента.....	188
<i>Никитина Т.В., Жигалина Д.И., Саженова Е.А., Толмачёва Е.Н., Скрябин Н.А., Лебедев И.Н.</i> Цитогенетические особенности хромосомного дисбаланса в эмбриональных клетках при привычном невынашивании беременности.....	190
<i>Орлова А.А., Жикривецкая С.О., Софронова Я.В., Мусатова Е.В., Померанцева Е.А.</i> Преимплантационная диагностика моногенных заболеваний: опыт проведения и совмещение со скринингом на хромосомные аномалии.....	191
<i>Савченко Р.Р., Кашеварова А.А., Скрябин Н.А., Жигалина Д.И., Лопаткина М.Е., Никитина Т.В., Васильев С.А., Лебедев И.Н.</i> Роль CNVs в этиологии анэмбрионии и неразвивающейся беременности.....	192
<i>Саженова Е.А., Марков А.В., Никитина Т.В., Скрябин Н.А., Васильев С.А., Толмачёва Е.Н., Назаренко М.С., Лебедев И.Н.</i> Индекс метилирования импринтированных генов <i>GRB10</i> и <i>GNAS</i> при нарушениях эмбрионального развития человека	193
<i>Трухина Ю.А., Тихомирова С.В., Сягин А.А., Гонтова Е.В., Абросимова М.Ю., Веледницкий В.Б., Кулева Н.А.</i> Опыт пренатальной диагностики в Ярославской области.....	195
<i>Черных В.Б.</i> Геномные исследования в диагностике нарушений формирования пола, развития половой системы и репродукции	195
<i>Широкова Н.А., Жикривецкая С.О., Биканов Р.А., Орлова А.А., Ветрова Н.В., Померанцева Е.А.</i> Преконцепционный генетический скрининг: опыт применения и перспективы	197
Раздел 9. КЛИНИЧЕСКАЯ ГЕНЕТИКА И МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ КОНСУЛЬТИРОВАНИЕ	199
<i>Гайнер Т.А., Матвеева В.Г., Каримова О.Г., Корень О.Л., Карамышева Т.В., Рубцов Н.Б.</i> Комплексная диагностика хромосомной патологии двух клинических случаев	199
<i>Еремина Е.Р., Цыренова В.Б.</i> Клинический случай недостаточности 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА лиазы	200
<i>Иванова А.С., Лапутин И.А., Герасименко Н.Ю., Гусева Л.В.</i> Интересные случаи мозаичных вариантов болезни Дауна	202
<i>Лапутин И.А., Иванова А.С.</i> Омской цитогенетической лаборатории МГК – 40 лет.	202
<i>Лязина Л.В.</i> Гомоцистинурия вследствие нарушения внутриклеточного обмена кобаламина. Пример клинического случая.....	203
<i>Маркова Ж.Г., Миньженкова М.Е., Цветкова Т.Г., Галкина В.А., Шилова Н.В.</i> Фенотипическая вариабельность у пациентов с <i>de novo</i> X-аутосомными несбалансированными транслокациями.....	204
<i>Миньженкова М.Е., Маркова Ж.Г., Дадали Е.Л., Шилова Н.В.</i> Интерхромосомная и интрахромосомная инсерции с участием хромосомы 2.....	205

Михайлова С.В. Нейрональный цероидный липофусциноз 2 типа (НЦЛ 2, недостаточность трипептидил пептидазы 1, классический вариант поздней младенческой формы НЦЛ 2-го типа, болезнь Янского–Бильшовского, cLINCL).....	206
Назаренко Л.П. Фенотипические различия при мукополисахаридозах IV и VI типов	208
Никонов А.М., Боронина С.Н., Лазарева Е.В., Курдеко И.В., Изченко Е.В., Алиева С.А., Чудосай Е.И., Захарова Е.Ю. Случай синдрома Целлвегера.....	210
Новоселова О.Г., Петрова Н.В., Красовский С.А., Кондратьева Е.И. Влияние полиморфизма гена цитохрома <i>CYP2D6</i> на эффективность антибактериальной терапии у пациентов с муковисцидозом, гомозиготных по мутации F508del гена <i>CFTR</i>	211
Опарина Н. В., Маркова Т.В., Калининкова С.Г. Редкий случай тканевого мозаицизма по X-хромосоме при синдроме Шерешевского–Тернера.	213
Овсова О.В., Никитина Н.В., Николаева Е.Б., Сумина М.Г., Корякина О.В., Максимова А.О., Моричева Е.А. Клинико-лабораторный анализ случаев синдрома Ретта	213
Петрова В.В., Назаренко Л.П., Сеитова Г.Н., Филимонова М.Н., Диденко Л.И., Сивоха В.М., Одинокоева О.Н., Петрова Н.В., Смирнова И.И., Лежнина О.В., Беляева А.Ю., Агафонова А.А. Сложности диагностики нетипичных форм муковисцидоза	215
Туркунова М.Е., Башнина Е.Б., Желенина Л.А., Иващенко Т.Э., Глотов О.С., Глотов А.С., Дитковская Л.В., Суспицын Е.Н., Серебрякова Е.А., Берсенева О.С., Шабанова Е.С., Тыртова Л.В., Скородок Ю.Л., Досовицкая Е.Р., Лобанова Н.Н., Тыртова Д.А., Скобелева К.В., Полянская М.А., Цореева Ф.З., Корытко Т.Е., Дубинина Т.А., Платонов В.В., Швед Н.Ю., Романова О.В., Федяков М.А., Сарана А.М., Баранов В.С. Молекулярно-генетическая диагностика моногенных форм сахарного диабета у детей	216
Янкина Г.Н., Кондратьева Е.И., Лошкова Е.В., Сергиенко Д.Ф. Иммунологические маркеры воспалительного процесса при муковисцидозе у детей.....	217
Раздел 10. МАТЕРИАЛЫ СПОНСОРОВ КОНФЕРЕНЦИИ	219
Афанасьев А.Г. Исследование и анализ тонкой структуры гена на базе геномной времяпролетной масс-спектрометрии. Применение аппаратного комплекса MassARRAY в научной и клинической практике.....	219
Дёмин И.Н. Клеточные технологии и функциональные методы в дополнение к генетическим исследованиям: взаимодействие и взаимопроникновение технологий.....	219