

М

Ежемесячный научно-практический журнал

МЕДИЦИНСКАЯ ГЕНЕТИКА

Подписные индексы:
по каталогу
агентства
«Роспечать» —
81290;
по каталогу
«Пресса России» —
42963

Телефоны
для справок:
(499) 612-81-07,
(495) 518-14-51

Адрес для писем
и бандеролей:
125315,
Москва, а/я 9

E-mail:
genius-media@mail.ru

Читайте в номере:

ТЕЗИСЫ

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

*3-й Всероссийской конференции
с международным участием
«Генетика опухолей кроветворной системы»,
г. Санкт-Петербург, 19—20 мая 2015 г.*

*Всероссийской научно-практической конференции
«Пренатальная диагностика наследственных
и врожденных заболеваний: настоящее и будущее»,
г. Санкт-Петербург, 22—23 мая 2015 г.*

4

2015

ко-генетического консультирования в этих семьях. В 2 случаях было установлено, что причиной аномального фенотипа у пациентов являлись микроделеция размером 2,4 млн п.н. и микро-дупликация размером 1,3 млн п.н. терминальных районов короткого и длинного плеча хромосомы 8 соответственно. В этих случаях результат ХМА был верифицирован при использовании таргетной FISH с ДНК-зондами на субтеломерные районы хромосомы 8. В 1 случае при ХМА был диагностирован геномный дисбаланс в виде одновременной микроделеции 10(q26.3) размером 3 млн п.н. и микродупликации 10 (q26.13q26.3) размером 8 млн п.н., верифицированные методом FISH с ДНК-зондом на субтеломерный район 10q и tBAND10 соответственно.

Таким образом, окончательный диагноз у пациентов с аномалиями фенотипа был установлен только при комбинации различных методов исследования.

Диагностика не описанной ранее мутации при синдроме ригидного позвоночника

Шипилова А.А.¹, Поляков А.В.², Кадникова В.А.²

¹ КГБУЗ «Диагностический центр Алтайского края», г.Барнаул
Алтайская межрегиональная медико-генетическая консультация
aa.shihilov66@yandex.ru

² «Центр молекулярной генетики», Москва

Синдром ригидного позвоночника (OMIM 602771) вариант врожденной непрогрессирующей миопатии, характеризующейся слабостью и гипотрофией мышц туловища и конечностей, контрактурами, деформацией позвоночника. Предполагаемый тип наследования аутосомно-рецессивный с варьирующей пенетрантностью.

Больная Б., 17 лет, направлена на консультацию врача-генетика ортопедом с диагнозом: Дисплазия соединительной ткани. S-образный сколиоз груднопоясничного отдела позвоночника 4 степени. Генеалогический анамнез не осложнен. Фенотипически: астеническое телосложение, гипотрофия мышц туловища и конечностей, сколиотическое нарушение осанки, деформация грудной клетки, ограничение разгибания в шейном и поясничном отделах позвоночника и крупных суставах. Рентгенология грудного отдела позвоночника: Правосторонний грудной сколиоз 4 степени. МСКТ: Грудной кифоз умеренно усилен на уровне Th7. Выраженный S-образный сколиоз груднопоясничного отдела позвоночника с ротацией позвонков. ФВД: Нарушение функции внешнего дыхания. Невролог: миопатия медленно прогрессирующая.

В «Центре Молекулярной генетики», Москва, проведено исследование образцов ДНК больной Б. с целью поиска мутаций, регистрируемых при синдроме ригидного позвоночника. В результате секвенирования всей кодирующей последовательности гена *SEPN1* включая области экзон-интронных соединений, обнаружены мутации в гетерозиготном состоянии. В экзоне 7 обнаружена не описанная ранее делеция четырех букв с.997 1000del GTGC (приводящая к сдвигу рамки считывания и появлению преждевременного стоп-кодона p.Ser 332 fs X22), в экзоне II обнаружена мутация с.1397G>A (приводящая к аминокислотной замене p.Arg466Gln). Диагноз молекулярно-генетическими методами подтвержден.

Холецистокинин как экспрессионная мишень несфатина-1 в процессах формирования пищевого поведения

Шипилова А.А., Тарасова А.Ю., Скобелева В.М., Климов Е.А., Ловать М.Л., Кокаева З.Г., Рудько О.И.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия
alen.shpilova2011@yandex.ru

Расстройства поведения, связанного с приемом пищи — группа синдромов в МКБ-10 с сильно различающимся содержанием: от способного самопроизвольно прекратиться передания, до нервной анорексии (F50.0), смертность при которой достигает 18%. Пептид холецистокинин выступает регулятором многих физиологических актов, имеет отношение к эмоциям страха, а также является важным регулятором пищевого поведения, вызывая чувство сытости и контролируя аппетит. Недавно открытый N-концевой фрагмент белка NUCB2, получивший название несфатин-1, необходим для распознавания голода и насыщения. Иммуногистохимически локализованная несфатина-1 с холецистокинином в ЦНС, что позволяет предположить их взаимодействие в регуляции пищевого поведения. Целью нашей работы был анализ транскрипционной активности препрохолецистокинина (*ССК*) в гипоталамусе и тонком кишечнике самцов и самок белых крыс на фоне курсового введения синтетических фрагментов неuropeптида несфатина-1. Работа выполнена на крысах линии Wistar весом 180–250 г. Синтетические пептиды — функциональные аналоги несфатина-1 — (Nesf-8, Nesf-18, Nesf-27c) вводились внутривентрикулярно в дозе 100 мкг на крысу в течение 14 дней. Нами получены данные о способности синтетических аналогов несфатина-1 при курсовом парентеральном введении оказывать продепрессивное и анорексигенное действие в поведенческих тестах, сходное с описанными в литературе эффектами самого несфатина-1. Оценку транскрипционной активности гена *ССК* проводили методом ПЦР в режиме реального времени по окончании курсового введения пептидов. У самок показано увеличение транскрипционной активности гена *ССК* при введении Nesf18: в тонком кишечнике (в 1,9 раза, $p < 0,01$); и при введении Nesf 27c: в гипоталамусе (в 2,5 раза, $p < 0,05$) и тонком кишечнике (в 5 раз, $p < 0,001$). У самцов — при введении Nesf8: в гипоталамусе (в 3,7 раз, $p < 0,005$) и в тонком кишечнике (в 4,9 раз, $p < 0,05$). Таким образом, на фоне анорексигенных и продепрессивных эффектов пептидов нами показано увеличение транскрипционной активности гена *ССК* после курсового введения синтетических аналогов белка несфатин-1. Можно предположить, что несфатин-1 является модулятором эффектов холецистокининергической системы в регуляции пищевого поведения и его эмоциональной составляющей.

Работа поддержана грантом РФФИ №13-04-02188.

Поиски микроРНК как биомаркёров фолликулогенеза

Шкурят Т.П.¹, Пономарева Н.С.¹, Григорян Н.А.², Рогачева Е.А.²

¹ Южный федеральный университет, г.Ростов-на-Дону

² Ростовский государственный медицинский университет, г.Ростов-на-Дону
tshkurat@srfedu.ru

Репродуктивная функция человека зависит от комплексных, но строго предопределённых гипоталамо-гипофизарно-гонадных взаимодействий. Фолликулогенез рассматривается как постоянный процесс иерархии фолликулов, при котором одновременно происходит рост и созревание одних фолликулов и атрезия других. Почему в каждом менструальном цикле женщины в развитие вступают в среднем около 30 фолликулов, а продолжает свое развитие только один — доминирующий фолликул, в то время как у других млекопитающих число доминирующих фолликулов в одном цикле может быть намного больше десяти?

Целью данного исследования было изучение особенностей распространения микроРНК вокруг генов гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси у млекопитающих с большим числом доминирующих фолликулов (*Canis lupus familiaris*, *Mus musculus*, *Oryctolagus cuniculus*, *Sus scrofa*, *Rattus norvegicus*) и с одним доминирующим фолликулом (*Homo sapiens*, *Ovis aries*, *Bos taurus*,

Gorilla gorilla, Macaca mulatta, Pan troglodytes Pongo abelii, Ovis aries). В геномах этих животных исследовали локализацию микроРНК в интронах и цис-регуляторных районах генов — альфа цепи гонадотропного гормона (CGA), фолликулостимулирующего гормона (FSHB), лютеинизирующего гормона (LHB) и тиреотропного гормона (TSHB). Все последовательности были извлечены из базы данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) помощью набора разработанного нами скриптов IFITCH. Последовательности микроРНК были взяты из базы данных miR-Base (<http://mirbase.org/>). Биоинформационный анализ осуществлялся с помощью GLAM2 и разработанного нами программного обеспечения Mscanner.

В результате биоинформационного анализа на участках с общей длиной более 4 миллионов пар нуклеотидов было обнаружено 5967 совпадений с последовательностями зрелых микроРНК с вероятностью более 85%. В цис-регуляторных районах гена CGA у животных с формированием одного доминантного фолликула расположено от 167 до 262 зрелых микроРНК, что в два раза больше по сравнению с другой группой животных (68—130). В гене FSHB у животных с формированием одного доминантного фолликула расположено от 267 до 367 зрелых микроРНК, что существенно превышает эти значения в другой группе животных (99—217). У всех животных вокруг гена LHB локализовано от 1 до 9 молекул микроРНК, а вокруг гена TSHB от 11 до 219, независимо от числа созревания доминирующих фолликулов. Расчёт коэффициентов корреляции позволил установить зависимости между числом найденных зрелых микроРНК в окрестностях генов CGA и FSHB и показателями репродуктивной системы, а именно: возрастом начала половой зрелости у самок $r = 0,69$ (CGA) $r = 0,77$ (FSHB), продолжительностью цикла $r = 0,68$ (FSHB), количеством выводков в год $r = 0,74$ (CGA), количеством детенышей в выводке $r = 0,82$ (FSHB), продолжительностью овуляции (эструса) $r = 0,83$ (FSHB), продолжительностью беременности $r = 0,89$ (FSHB), весом при рождении $r = 0,86$ (FSHB) интервалом между родами, $r = 0,79$ (CGA) $r = 0,87$ (FSHB). Таким образом, микроРНК выполняют важную регуляторную роль в процессе фолликулогенеза.

Исследование выполнено при поддержке МОН РФ в рамках проектной части государственного задания в сфере научной деятельности №6.703.2014/К.

Прогностическое значение поражения костного мозга (КМ), выявляемого на основании экспрессии опухоль-ассоциированных генов (ОАГ) у пациентов с нейробластомой

Шориков Е.В.^{1,2}, Друй А.Е.^{1,2,3}, Цаур Г.А.^{1,2},
Тупоногов С.Н.¹, Попов А.М.^{1,2}, Савельев Л.И.^{1,2,3},
Фечина Л.Г.^{1,2}

¹ Областная детская клиническая больница №1, Екатеринбург, Россия

² Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург, Россия

³ Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия
620149, Россия, Екатеринбург, ул. С.Дерябиной, 32
uralmolgen@gmail.com

Для исследования наличия опухолевых клеток в КМ была создана панель из четырёх ОАГ: PHOX2B, TH, ELAVL4 и GD2, экспрессия которых исследовалась с помощью ПЦР в режиме реального времени. В качестве позитивных контрольных образцов исследовались клеточные линии (Kelly, IMR32), в качестве негативных — 26 образцов КМ от 20 пациентов без злокачественных опухолей. Исследуемая группа включала 331 образец КМ от 57 больных нейробластомой. С целью установления порогового уровня (ПУ) экспрессии каждого ОАГ применялся ROC-анализ, для которого истинно-позитивными признавались

образцы, в которых выявлялась экспрессия гена PHOX2B и/или обнаруживались опухолевые клетки в цитологических препаратах. Установленные ПУ были использованы для расчёта диагностической эффективности тестов (ДЭТ). Для проведения подтверждающих расчётов ПУ и ДЭТ, экспрессия ОАГ анализировалась в дополнительной группе, включающей 311 образцов КМ от 55 пациентов. Наличие персистирующих опухолевых клеток оценивалось в 23 препаратах периферических стволовых клеток (ПСК). Прогностическое значение наличия экспрессии ОАГ в КМ оценивалось на основании показателей 5-летней бессобытийной (БСВ) и общей выживаемости (ОВ) пациентов. Медиана времени наблюдения достигла 2,45 года.

Матричная РНК генов PHOX2B и TH не была выявлена в образцах интактного КМ, тогда как экспрессия ELAVL4 определялась в 20, а GD2 — в 15 из 26 образцов данной группы. В анализируемой группе образцов КМ больных нейробластомой 105 имели экспрессию гена PHOX2B и только 101 — TH, экспрессия которого была выявлена в 5 из 224 негативных образцов КМ. Экспрессия ELAVL4 и GD2 обнаруживалась во всех 107 позитивных образцах и в большинстве негативных (209 и 197 из 224 соответственно). Проведенный ROC-анализ позволил установить ПУ экспрессии ОАГ с наилучшим разделением позитивных и негативных образцов, которые для генов TH, ELAVL4 и GD2 составили соответственно -16,535, -7,130 и -8,459, а рассчитанные на их основании величины ДЭТ — 0,952, 0,828 и 0,767. ДЭТ для гена PHOX2B достигла 0,994. Высокие значения ДЭТ генов PHOX2B и TH были подтверждены при анализе экспрессии данных генов в дополнительной группе (0,997 и 0,939, соответственно), ПУ для гена TH составил -13,995. Наличие экспрессии генов PHOX2B/TH в КМ пациентов с нейробластомой при первичной диагностике приводит к снижению как БСВ ($0,31 \pm 0,12$ vs. $0,81 \pm 0,06$, $p < 0,001$), так и ОВ ($0,31 \pm 0,13$ vs. $0,87 \pm 0,05$, $p < 0,001$). Персистенция экспрессии ОАГ в процессе терапии проявляется в тенденции к снижению БСВ ($0,27 \pm 0,12$ vs. $0,43 \pm 0,19$, $p = 0,08$). Экспрессия генов PHOX2B/TH не была обнаружена ни в одном из 23 образцов ПСК, в то же время, наличие экспрессии данных генов в КМ перед процедурой афереза ПСК ассоциировано с резким снижением выживаемости пациентов, несмотря на проведение CD34+ селекции (БСВ $0,00$ vs. $0,35 \pm 0,14$, $p = 0,04$; ОВ $0,00$ vs. $0,36 \pm 0,15$, $p = 0,03$). Также было отмечено, что преобладание величины экспрессии PHOX2B над уровнем экспрессии TH в КМ пациентов при первичной диагностике более чем на 1,68 имеет негативное прогностическое значение: БСВ $0,00$ vs. $0,56 \pm 0,12$, $p = 0,017$, ОВ $0,00$ vs. $0,72 \pm 0,11$, $p = 0,006$.

Таким образом, выявление экспрессии генов PHOX2B и TH является наиболее оптимальным маркером поражения КМ у пациентов с нейробластомой. Присутствие мРНК данных генов в КМ при первичной диагностике, а также перед аферезом ПСК имеет негативное прогностическое значение. Обнаружение преобладания экспрессии PHOX2B над TH в КМ первичных пациентов может быть полезно для выделения пациентов группы высокого риска.

Анализ геномного контекста мутации с.35delG гена GJB2 у белорусских пациентов с потерей слуха в сравнении с пациентами из Сибири

Шубина-Олейник О.А.¹, Сиявская М.Г.¹,
Зыцарь М.В.^{2,3}, Меркулова Е.П.⁴, Посух О.Л.^{2,3},
Барашков Н.А.^{5,6}, Михальская В.Ю.^{2,3}, Даниленко Н.Г.¹

¹ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

² Oleiniuk.Olga@yahoo.co.uk

³ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

⁴ — Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия