

Таким образом, исследование по технологии Prenatal BoBs™ является быстрым и надежным методом диагностики микроделеций и анеуплоидий, результаты которого в большинстве случаев совпадают с классической цитогенетикой. В 0,9% случаев получены результаты, требующие дополнительных исследований для клинической интерпретации. На нашем материале чувствительность метода составила 98,1%, специфичность – 100%, минимальный выявляемый уровень мозаицизма – 25%, риск ошибочного либо неопределенного заключения составил 1,3% и полностью обуславливался мозаицизмом или патологией, не входящей в диагностический спектр.

А.С. Горбенко, М.А. Столяр, И.А. Ольховский. Разработка молекулярно-генетического теста выявления мутаций в гене кальретикулина (CALR). Красноярский филиал ФГБУ "Гематологический научный центр" Минздрава России; ФГБУН Красноярский научный центр СО РАН

В декабре 2013 г. двумя научными группами независимо друг от друга было продемонстрировано, что мутации CALR обнаруживаются более чем в половине случаев среди пациентов с эссенциальной тромбоцитемией и первичным миелофиброзом, не имеющих мутаций в генах *JAK2* и *MPL*. В настоящее время обсуждается вопрос включения теста на выявление мутаций *CALR* в клинические рекомендации ВОЗ по проведению дифференциальной диагностики миелоидных неоплазий. Целью нашей работы явилась разработка методов выявления делеций и инсерции в гене *CALR*.

В результате проведенного подбора праймеров и оптимизации режима амплификации отработаны методы молекулярно-генетического исследования с электрофоретической детекцией результатов для выявления делеций, а также метод ПРЦ-РВ для выявления инсерции этого гена. Проведенное ретроспективное исследование архива проб ДНК 354 пациентов с подозрением на хроническое миелопролиферативное заболевание, поступивших в период с 01.09.12 по 20.04.14 на консультативный прием врача-гематолога в амбулаторно-поликлинические учреждения г. Красноярска и в Красноярскую краевую клиническую больницу позволило выявить 19 пациентов с делецией и 11 пациентов с инсерцией в гене *CALR*. Среди пациентов с диагнозом эссенциальная тромбоцитемия, имеющих повышенный уровень тромбоцитов (более 500 тыс. в мкл) и отрицательных в тестах на мутации в генах *JAK2* и *MPL*, было выявлено 25 (45%) пациентов с мутациями в гене *CALR*, что в целом соответствует описанной частоте их встречаемости среди пациентов с эссенциальной тромбоцитемией в Европе. Тест определения мутации *CALR* может быть включен в стандарты дифференциальной диагностики хронических миелопролиферативных заболеваний.

И.А. Топчиева, В.Е. Веровский, К.Д. Капланов, Г.П. Дудченко, Б.В. Меклеева. Совершенствование протокола кометного анализа повреждения ДНК. ГБОУ ВПО Волгоградский государственный медицинский университет; Волгоградский областной клинический онкологический диспансер № 1

Гель-электрофорез единичных клеток, который лежит в основе кометного анализа, является технически простым и быстрым методом, позволяющим выявлять генетические изменения практически в любых типах клеток млекопитаю-

щих. В соответствии с современными требованиями любой метод должен быть валидирован, прежде чем может быть использован в лабораторной практике, в данном случае для доказательства изменения генома. Регистрация повреждения ДНК (кометный анализ) представляет собой нетривиальную аналитическую задачу, так как связана с необходимостью перевода качественного анализа (микроскопии) в количественные показатели. Это в свою очередь объясняется сложностью идентификации поврежденных клеток от неповрежденных, которые вносят свой вклад в оценку суммарной площади хвостов комет, что, естественно, сказывается в конечном итоге на интерпретации полученных результатов.

Цель настоящего исследования – установить критерий, который позволил бы учитывать результаты измерения только поврежденных клеток.

Исследовались образцы цельной периферической крови, полученные от здоровых доноров, по стандартной процедуре кометного теста. Анализ проводили на 10 препаратах каждого образца, окрашенных SyberGreen, с подсчетом не менее 100 клеток на препарат. Для количественного анализа изображений использована программа TriTek CometScore. «Субъективный» фактор при настройке отсечения свечения фона («дискриминатора яркости») учитывался путем 3-х кратного анализа каждого изображения с независимыми настройками. Регистрировалось количество комет (клеток), % ДНК в хвостах которых находится выше дискриминатора. Было установлено, что с увеличением значения дискриминатора количество клеток, лежащих в его пределах, значительно снижается в диапазоне от 0,00075 до 0,00125% и практически не изменяется в диапазоне от 0,00125 до 0,00150% ДНК в хвосте. Эта оценка не зависела ни от настройки «дискриминатора яркости», ни от приготовления препарата. Установленный фактор позволяет предположить, что именно значение 0,0015% является пороговым для достоверного дискриминирования между клетками с поврежденным генетическим аппаратом и клетками с неповрежденным геномом.

При изучении степени повреждения ДНК клеток, находящихся в пределах указанных значений дискриминаторов, было показано, что среднее значение % ДНК в хвостах комет увеличивается в обеих сериях экспериментов, что является доказательством высказанного ранее предположения.

Обнаруженное значение дискриминатора было использовано для статистической обработки данных, полученных при исследовании периферической крови пациентов, страдающих лимфогранулематозом (болезнь Ходжкина) до проведения химиотерапии и после окончания курса терапии. В результате проведенного исследования было установлено увеличение количества поврежденных клеток после терапии у всех пациентов.

Таким образом, удалось выявить положительную взаимосвязь между значением предлагаемого критерия отбора и количеством поврежденных клеток, было доказано, что в данном случае учитываются и анализируются клетки с повреждением генетического материала в результате влияния только изучаемого фактора. Считаем, что данный критерий может быть использован в любых исследованиях с применением кометного анализа периферической крови человека.

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ В ЛАБОРАТОРНОЙ ПЕДИАТРИИ – ОТ ПРЕНАТАЛЬНОГО СКРИНИНГА ДО ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ

П.В. Новиков. Достижения современной генетики и персонализированная медицина. ОСП НИКИ педиатрии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва

Взаимовлияние генетики и медицины обеспечило тот колоссальный рывок в исследовании наследственности человека и реализации ее достижений в практике, которое на-

блюдалось в последние 30–40 лет. На рубеже XX и XXI веков медицинская генетика заняла лидирующее место в медико-биологической науке, аккумулировав передовые методы и концепции разных медицинских и биологических дисциплин.

Главным итогом медицинской генетики к концу XX века стало создание генетических технологий для медицины, ко-

торые позволили ускоренно решать трудные вопросы в медицине и здравоохранении.

Сейчас, как никогда, изучение генетических болезней требует детального понимания молекулярной патологии, физиологии и биохимии генома человека.

Современная медицинская генетика вооружила клиницистов методами ранней, доклинической (досимптоматической) и даже пренатальной диагностики наследственных болезней. Интенсивно развиваются и в некоторых центрах применяются методы преимплантационной (до имплантации зародыша) диагностики.

Понимание молекулярных механизмов патогенеза наследственных болезней и высокие медицинские технологии обеспечили успешное лечение многих форм патологии. Сложилась стройная система профилактики наследственных болезней: медико-генетическое консультирование, прекоцепционная профилактика, пренатальная диагностика, массовая диагностика у новорожденных наследственных болезней обмена, поддающихся диетической и лекарственной коррекции, диспансеризация больных и членов их семей. В 2013 г. в РФ обследованы 1802 тыс. новорожденных на 5 нозологий и было выявлено 1220 детей с врожденными и наследственными заболеваниями (276 фенилкетонурия (ФКУ), 490 врожденный гипотиреоз (ВГ), 185 адено-генитальный синдром (АГС), 83 галактоземия (Гал), 186 – муковисцидоз (МВ)). Частота указанных заболеваний составила: ФКУ – 1:6528, ВГ – 1:3677, АГС – 1:9740, Гал – 1:21710, МВ – 1:9688. Внедрение этой системы обеспечивает снижение частоты на 60–70% рождения детей с ВПР и наследственными болезнями.

Информация о геноме человека после завершения в начале XXI века основных частей проекта «Геном человека» произвела переворот в генетике человека. Она создала базу для ускоренного развития нового направления в медицине – персонализированной медицины, ибо данные о геноме человека позволяют прогнозировать течение заболевания и исходы лечения и определять роль и значение генетических вариаций.

Достижения генетики привели к изменению парадигм (концепций) клинической медицины и педиатрии. Стала ясна необходимость перехода от использования сложнейших и очень дорогих технологий, направленных на продолжение жизни зачастую безнадежно больных, таких как трансплантация органов, гемодиализ, интенсивная терапия и реанимация, методы медико-социальной адаптации детей-инвалидов, к другим технологиям профилактической и превентивной направленности. Так, в Российской Федерации используются современные методы пренатальной диагностики врожденных и наследственных болезней (для I триместра – белок РАРР-А, ингибин, ХГЧ; II триместра – АФП, β-ХГЧ, УЗИ), расширены программы массового и селективного скрининга на эти болезни. Разрабатываются методы трансплантации генов, клеток, тканей, хирургической коррекции врожденных пороков на ранних этапах жизни. Таким образом, на первый план выступают превентивные технологии в начале жизни, а не «спасительные» меры в ее преждевременном конце.

Развились новые направления в предиктивной медицине – нутригеномика, фармакогенетика, генетика старения и активного долголетия, спортивная генетика и др.

Генотип и фенотип – взаимосвязанные по содержанию понятия. Фенотип – это не только внешний, морфологический признак. Он включает в себя молекулярные симптомы, симптомы экспрессии генов в виде аномальных структур белков, ферментов и других соединений, т.е. каждый симптом отражает нарушения на разных уровнях организации клеточных и тканевых структур. Широкое разнообразие мутаций как по спектру, так и по количеству неизбежно отражается на фенотипе. Понять тонкие механизмы реализации генетической информации от гена до фенотипа – трудная задача, для решения которой потребуются определенное время.

Врачи и организаторы здравоохранения могут активно участвовать в реализации достижений медицинской генетики.

Л.И. Шагам, А.В. Полякова, В.С. Сухоруков. Подходы к диагностике наследственных заболеваний методом высокопроизводительного секвенирования. ОСП НИКИ педиатрии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва

Высокопроизводительное секвенирование позволяет проводить генетическую диагностику моногенных заболеваний на основании данных о мутациях и полиморфизмах геномной последовательности с разрешением до одного нуклеотида. На сегодняшний день применяются два альтернативных подхода в генетической диагностике наследственных заболеваний – секвенирование полного экзоста человека и секвенирование экзонной последовательности только тех генов, которые связаны с исследуемой патологией.

Методически экзомное исследование основано на секвенировании полной экзонной последовательности генов человека, фракция которых может быть получена либо методом гибридизационного обогащения, либо при помощи мультиплексной ПЦР-реакции. Главное преимущество метода – стандартизованный подход в исследовании всех генетически обусловленных заболеваний (около 85% патогенных мутаций приходится именно на экзом). Однако в случае интереса к одному или нескольким конкретным заболеваниям исследователь получает для анализа большой массив данных, львиная доля которого, как правило, остается не исследованной. При этом на сегодняшний день стоимость подобного исследования является существенным ограничительным фактором.

Второй подход подразумевает создание генных панелей под определенное заболевание или группу заболеваний. Он основан на мультиплексной ПЦР-амплификации целевых фрагментов генома, как правило, экзонной последовательности генов с захватом части смежной с ними последовательности интронов (для выявления полиморфизмов сайтов сплайсинга). Данный подход не только является экономически более обоснованным, но и позволяет осуществить дизайн панели с учетом накопленных знаний по исследуемой патологии о наличии диагностически значимых мутаций вне экзонов. При этом недостатком метода является необходимость дизайна специфической геномной панели под каждую патологию или группу патологий, что делает его рентабельным только при наличии потока пациентов, пусть и небольшого.

На основании вышеизложенных обстоятельств мы для диагностики наследственных заболеваний у детей используем второй подход. Нами были разработаны генные панели для выявления патологии почек (синдром Альпорта) и сердечно-сосудистой системы (гипертрофическая кардиомиопатия).

Для выявления гипертрофической кардиомиопатии нами разработана специализированная панель генов, в состав которой входят 13 генов саркомерных и 9 генов несаркомерных белков миокарда. Панель покрывает кодирующие экзоны и смежные участки интронных областей генов (сайты сплайсинга), покрытие целевых участков составляет 97%. Панель генов COL4A3, COL4A4 и COL4A5 разработана нами для диагностики синдрома Альпорта и характеризуется 98% покрытием кодирующих экзонов и смежных интронных областей. Ее использование позволило выявить большое число ранее не описанных мутаций, вызывающих синдром Альпорта в российской популяции.

А.Н. Памтура, Т.В. Виноградова, М. К. Тагирова, Е.А. Ружижская, Е.Е. Варламов, М.С. Тренева, А.А. Чусляева, Н.В. Есакова, В.С. Сухоруков. Молекулярно-иммунологические аспекты изучения аллергических заболеваний у детей. ОСП НИКИ педиатрии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва

В течение последних 30 лет отмечается рост распространенности аллергических заболеваний у детей. Данная тенденция в настоящее время наблюдается прежде всего в развитых государствах. Спектр аллергических заболеваний исключительно широк: atopический дерматит, крапивница, анафилаксия, аллергическое поражение желудочно-кишечного тракта и др. При

этом расширяется профиль клинически значимых аллергенов. Выявляется отчетливая тенденция к увеличению количества больных с тяжелым течением аллергических заболеваний; повышению доли резистентных к стандартной терапии пациентов; изменению профиля клинических проявлений аллергии; гиподиагностике ряда нозологических форм; увеличению материальных затрат, связанных с оказанием полноценной помощи больным и т.д. Все это обуславливает высокую актуальность всестороннего изучения аллергических заболеваний у детей.

Современные методы молекулярно-иммунологических исследований позволяют по-новому оценить сформировавшиеся подходы к изучению патогенеза аллергических заболеваний, разработке методов профилактики и терапии. Принципиальным является определение и активное использование высокоинформативных молекулярно-иммунологических биомаркеров первичной профилактики аллергии, что фокусирует исследования на паре мать–ребенок в перинатальном периоде и раннем детском возрасте в популяции.

Формирование кластеров молекулярно-иммунологических тестов в соответствии с нозологическими единицами в значительной степени оптимизирует качество обследования и лечения больных (отказ от использования недостаточно информативных методов при внедрении высокотехнологичных биомаркеров). Данный подход наряду с очевидной пользой для больного позволяет снизить экономические затраты, что особенно актуально для практической медицины.

Высокоэффективна оценка индивидуального иммунного ответа у детей, страдающих аллергическими заболеваниями, с использованием последних достижений протеомики, транскриптомики, метаболомики, эпигеномики, нутригеномики и т.д. Очевидно, что на современном этапе корректировка и введение новых клинических стандартов на основании данных молекулярно-иммунологических методов необходимы для развития детской аллергологии.

М.К. Тагирова, С.В. Смирнова, А.Р. Садыков, С.С. Инфарович, Е.Е. Варламов, А.Н. Пампура, В.С. Сухоруков. Дифференцированный цифровой анализ РНК в диагностике аллергических болезней у детей. ОСП НИКИ педиатрии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва

В настоящее время для изучения экспрессии генов в диагностических целях используют общепринятые методы анализа комплементарной ДНК, полученной с помощью обратной транскрипции: ПЦР в реальном времени, технологии с использованием ДНК-микрочипов, секвенирование нового поколения. Использование ферментативных реакций в данных методиках увеличивает продолжительность анализа, требует специальных условий работы с РНК и увеличивает возможность аналитических ошибок. Разработанная в 2008 г. технология Nanostring на основе молекулярного кодирования РНК позволяет проводить дифференцированный цифровой анализ РНК напрямую, без ферментативных реакций, что значительно ускоряет процесс и повышает точность полученных результатов. Кроме того, технология Nanostring позволяет одновременно анализировать экспрессию значительного числа генов, что дает большие возможности для понимания патологических процессов при наследственных заболеваниях.

Цель – оценить возможность применения дифференцированного цифрового анализа РНК в диагностике аллергических болезней у детей.

В работе были обследованы 20 детей с аллергическими заболеваниями резистентными к проводимой терапии. Проводили гибридизацию РНК, полученную из периферической крови обследованных детей, с зондами Nanostring на 500 генов, нарушения которых ассоциированы с развитием иммунопатологических и аллергических состояний. В качестве контроля гибридизации использована синтетическая РНК. Полученные результаты по экспрессии генов обработаны пакетом программ Statistica 6.0 и R для визуализации данных, а также проведен дополнительный биоинформатический анализ с использованием базы данных по экспрессии генов BioGPS и MetaCore.

Были получены результаты изменения экспрессии генов при различных наследственных заболеваниях. Нормализация результатов экспрессии 500 генов, нарушения которых ассоциированы с развитием иммунопатологических и аллергических состояний, была проведена по данным экспрессии 15 генов (ABCF1, ALAS1, EEF1G, G6PD, GAPDH, GUSB, HPRT1, OAZ1, POLR1B, POLR2A, PPIA, SDHA, TBP, TUBB, RPL19), использованных в качестве референсных. Статистический анализ по одностороннему *t*-тесту Стьюдента выявил достоверную разницу между значениями. Уровень значимости для составил $p < 0,05$. Экспрессия исследуемых генов была вариабельна для каждого обследованного ребенка и имела тенденцию изменения уровня экспрессии генов при аллергических заболеваниях в сравнении с контролем.

Таким образом, дифференцированный цифровой анализ РНК на основе молекулярного кодирования РНК позволяет анализировать большое количество генов для одного образца и находить изменение экспрессии определенных генов, ассоциированных с патологическим наследственно обусловленным состоянием. Полученные результаты свидетельствуют о возможности использования данной технологии для анализа РНК в диагностике аллергических заболеваний.

А.С. Воронкова, Н.А. Литвинова, В.С. Сухоруков. Особенности секвенирования митохондриальной ДНК в клинической диагностике болезней энергообмена. ОСП НИКИ педиатрии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва

Нарушения клеточного энергообмена, в основе которых лежит митохондриальная недостаточность, ведут к широкому спектру клинических проявлений (синдромы NARP, MERRF, MELAS и др.). Наиболее энергозависимыми являются нервные элементы, сердечная и скелетная мышечные ткани, почки, эндокринные железы и печень. Возможность митохондриальной дисфункции следует учитывать при диагностике многих прогрессирующих мультисистемных расстройств. Это определяет актуальность внедрения методов молекулярной диагностики заболеваний, связанных с нарушениями клеточного энергообмена. Целью данной работы является определение молекулярных особенностей, которые необходимо учитывать при секвенировании митохондриальной ДНК (мтДНК) с диагностической целью.

Митохондриальная дисфункция может быть вызвана патологическими мутациями митохондриальных генов (кодирующих элементы цикла Кребса, транспортные и рибосомальные РНК). Клетка может содержать тысячи копий митохондриального генома. В связи с несовершенством системы репарации мтДНК, окислительным стрессом и более высоким (по сравнению с ядром) уровнем репликации в митохондриальном геноме часто возникают мутации. Полиплоидная природа мтДНК ведет к тому, что мутантные копии генома сосуществуют с копиями дикого типа в различной пропорции (гетероплазмия).

В связи с тем что мутация может присутствовать в небольшом количестве копий мтДНК в клетке, при секвенировании митохондриального генома необходимо получать не только полную прямую последовательность нуклеотидов, но и обратную (ресеквенирование). Такой подход значительно увеличивает возможность обнаружения значимой мутации.

В настоящее время в Научно-исследовательском клиническом институте педиатрии нами проводится работа по секвенированию полного митохондриального генома в соответствии с этим подходом. Работа проводится с использованием высокотехнологичных методов, в том числе капиллярного электрофореза.

Однако гетероплазмия встречается и как норма в клетках человека – около 25% людей являются носителями гетероплазмии как минимум по одному гену. Пропорция мутантных копий мтДНК имеет особое значение в понимании природы митохондриальных заболеваний. Клинические проявления митохондриальных заболеваний коррелируют с относительным содержанием мутантных копий мтДНК. В общем случае пороговый

уровень мутантных копий мтДНК в клетке составляет не менее 80%. Между тем в некоторых энергозависимых тканях, в частности в нейронах, пороговый уровень может составлять около 20% мутантной мтДНК. В то же время уровень мутантной мтДНК может изменяться с течением времени, увеличиваясь в постмитотических тканях, таких как мозг и мышцы, и уменьшаясь в митотических тканях, к примеру в крови.

В связи с вышесказанным следует отметить важность секвенирования различных доступных для анализа тканей: крови, буккального эпителия, мышцы. Это дает возможность оценить влияние количества мутантной ДНК на клинический фенотип митохондриального заболевания.

Таким образом, при клинической диагностике болезней энергообмена необходимо учитывать важность как ресеквенирования митохондриального генома, так и выявления межтканевых различий.

Л.И. Шагам, Д.В. Шенцева, А.В. Полякова, В.С. Сухоруков, Н.Е. Конькова, В.В. Длин. **Новая рецессивная мутация гена COL4A, вызывающая синдром Альпорта.** ОСП НИКИ педиатрии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва

Синдром Альпорта (СА) – наследственный нефрит, обусловленный дефектами генов COL4A3, COL4A4 и COL4A5. Он проявляется гематурией, протеинурией, прогрессирующей почечной недостаточностью и зачастую сопровождается нарушениями слуха и зрения. Распространенность СА составляет около 1 случая на 5000 человек. Патогенные мутации данных генов, как правило, локализируются в кодирующих экзонах или сайтах сплайсинга, к настоящему моменту собрана обширная международная база мутаций генов с указанием их патогенности или нейтральности (www.lovd.nl/).

Подавляющее большинство случаев СА связано с дефектами в гене COL4A5. При этом форма СА, вызванная патогенными мутациями в генах COL4A3 и COL4A4 является относительно редкой (15% случаев) и характеризуется, как правило, аутосомно-рецессивным типом наследования. Среди описанных мутаций гена COL4A4, около половины приходится на несинонимичные замены, более четверти – мутации, приводящие к сдвигу рамки считывания, реже встречаются мутации сайтов сплайсинга и нонсенс-мутации, а также крупные делеции.

Нами проведено обследование семьи из пяти человек – трех sibсов, страдающих СА, и их здоровых родителей. Патологические изменения в анализах мочи проявились у детей, двух мальчиков и девочки, в 1 год, 6 лет и 2 года, соответственно. У всех детей выявлена протеинурия, гематурия и гиперметропический астигматизм, при этом отсутствуют нарушения слуха.

В дебюте мочевого синдром у всех sibсов был представлен гематурией и протеинурией. По данным серии обследований, выявлена торпидная гематурия от 90 до 500 эритроцитов в поле зрения, протеинурия у мальчиков колебалась в пределах от 0,1 до 0,2 г/л, суточная потеря белка в пределах от 7,5 до 7,8 мг/кг, скорость клубочковой фильтрации по Шварцу 109–120 мл/мин. У девочки суточная потеря белка составляла 54 мг/кг.

Девочке выполнена пункционная нефробиопсия, по заключению которой при световой микроскопии данных в пользу гломерулярной патологии не выявлено, при этом, по данным электронной микроскопии, толщина гломерулярной

базальной мембраны неравномерна, с участками истончения и утолщения, в утолщенных участках расслоение lamina densa, отрицательная иммуногистохимическая реакция на IgG, IgM, IgA и c3, что согласуется с ожидаемой клинической картиной при СА.

По результатам тональной пороговой аудиометрии, нарушений слуха у sibсов не выявлено.

Исследование данной формы СА, клинически проявившейся в результате близкородственного брака, позволило нам выявить три колокализованные мутации гена COL4A4: с.2030_2031del, с.2026C>A и с.2024_2025insA, приводящие к сдвигу рамки считывания белка p.Arg675fs (в норме белок состоит из 1690 аминокислотных остатков). Генетический анализ проведен методом секвенирования кодирующих областей и сайтов сплайсинга генов COL4A3, COL4A4 и COL4A5 с использованием технологии мультиплексной ПЦР AmpliSeq и секвенатора Ion PGM.

Эти мутации не описаны ранее, и они вызывают аутосомно-рецессивную форму СА. У обоих родителей, клинически здоровых, имеются вышеописанные мутации в гетерозиготном состоянии, в то время как все дети являются их гомозиготными носителями.

Д.М. Акмаева, П.А. Шаталов. **Современные возможности молекулярно-генетической диагностики туберозного склероза.** ОСП НИКИ педиатрии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва

Внедрение в медицину и разработка молекулярно-генетических технологий диагностики туберозного склероза актуальны ввиду сложной клинической картины данного заболевания. Мутациями в гене TSC1 обусловлено от 15 до 30% семейных случаев туберозного склероза и от 10 до 15% спорадических. При этом 70–80% спорадических случаев обусловлены мутациями в гене TSC2. У 15–20% пациентов с данным заболеванием мутации в генах TSC1 и TSC2 не детектируются. В связи с этим важной задачей для консультирования таких семей является молекулярно-генетическая диагностика туберозного склероза для дифференцирования мутаций. Целью настоящей работы являлась разработка универсального алгоритма комплексной молекулярно-генетической диагностики туберозного склероза, позволяющей четко подтверждать диагноз, особенно в клинически сложно диагностируемых случаях этого заболевания. Для исследования наиболее распространенных известных мутаций в генах TSC1 и TSC2 использовалась ПЦР в режиме реального времени методом TaqMan на приборе Bio-Rad Mini Opticon. Принимали участие 10 пробандов, больных туберозным склерозом, и члены их семей (всего 30 человек) для дифференциальной диагностики наследственного или спорадического характера мутаций в генах туберозного склероза. Преимуществом данного метода является возможность определения мозаичных мутаций в генах туберозного склероза. По результатам исследования в 90% случаев у больных найдены спонтанные мутации, а в 10% эти мутации носили семейный мозаичный характер. В 60% случаев мутации обнаружены в гене TSC1 (гамартин), в 40% – TSC2 (туберин). В большинстве случаев это были точковые мутации. Таким образом, у всех пациентов с клиникой туберозного склероза диагноз был подтвержден молекулярно-генетическими методами.

ПУБЛИКАЦИИ ПО ПРОБЛЕМЕ

Е.С. Воздвиженская, З.Р. Баширова, И.М. Османов. **Матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы у детей с аутосомно-доминантной поликистозной болезнью почек.** ОСП Научно-исследовательский клинический институт педиатрии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва

Целью исследования явилось определение характера из-

менения матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов у детей с аутосомно-доминантной поликистозной болезнью почек (АДПБП) как критерия прогрессирования заболевания.

У 26 детей (15 мальчиков и 11 девочек) с АДПБП в возрасте от 4 до 16 лет (средний возраст 11,17 ± 4,81 года) методом ELISA в крови и моче исследованы основные компоненты системы протеолиза – матриксные металлопротеиназы