

этапа является широкий полиморфизм клинических проявлений, присущий синдромам микроделеций и микродупликаций. Одним из выходов из этой ситуации может стать широкое использование нетаргетных методов, однако в настоящее время нетаргетные методы остаются достаточно дорогими, не всегда и не везде доступными. В то же время существует большое количество работ посвященных клиническому анализу известных синдромов и попытке сформулировать надежные показания для использования таргетных методов. Одним из таких подходов является ранжирование симптомов по их диагностической значимости с выделением групп постоянных, частых и ассоциированных симптомов. Еще одной особенностью клинической диагностики является высокое значение антропологических особенностей и особенностей поведения больного, а не только аномалий и микроаномалий развития на преимущественном внимании к которым основана классическая генетическая синдромология. Микроаномалии могут быть немногочисленны и часто носят мягкий характер, в то же время особенности поведения и антропологические показатели могут выходить на первый план. Классическим примером такой переоценки роли отдельных симптомов могут служить синдромы Ангельмана, Вильямса, Смита-Магениса.

*А.А. Василишина, Е.А Котелевская, М.А. Глебова,
М.А. Булатникова, А.Б. Смолянинов*

МУЛЬТИПЛЕКСНАЯ ЛИГАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ В ДИАГНОСТИКЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

*Северо-Западный государственный медицинский университет
им. И.И. Мечникова; ООО «Покровский банк стволовых клеток»
Санкт-Петербург, vasilishina.a@gmail.com*

Согласно мировой и российской статистике суммарная частота наследственных болезней составляет около 30-40 на 1000 новорожденных. Больные с генетическими нарушениями составляют до 50% пациентов детских стационаров. Наследственная патология составляет около 37% в структуре младенческой и детской смертности и около 40% инвалидности с детства. Более 50% умственной отсталости обусловлено генетическими причинами. Наследственные болезни включают в себя хромосомные, обусловленные изменением числа или структуры хромосом, и моногенные болезни, обусловленные мутациями в отдельном гене.

Хромосомные болезни проявляются пороками или множественными микроаномалиями развития, задержкой психомоторного и речевого развития, умствен-

ной отсталостью и другими нарушениями. Основным методом хромосомного анализа является стандартное кариотипирование. Однако уровень разрешения данного метода не позволяет выявлять делеции и дупликации участков хромосом протяженностью менее 5 млн. пар нуклеотидов, которые обуславливают целую группу микроделеционных и микродупликационных синдромов.

В настоящее время известно около 10 тысяч моногенных болезней. Клинические проявления таких заболеваний разнообразны (нарушения обмена веществ, нервно-мышечная, ортопедическая патология, поражения органов зрения и слуха и т.д.) и зависят от функции поврежденного гена. Чаще всего моногенные болезни обусловлены точечными мутациями в кодирующей части гена. Для детекции таких мутаций применяют методы ПЦР, ПДРФ-анализа, секвенирования. Однако при многих моногенных болезнях описаны делеции и дупликации целых экзонов, которые далеко не всегда можно обнаружить данными методами. А при таких наиболее часто встречающихся моногенных заболеваниях, как миодистрофия Дюшенна-Беккера и спинальная мышечная атрофия, протяженные делеции играют ведущую роль.

Мультиплексная лигазная цепная реакция (MLPA) – это молекулярно-генетический метод определения относительного количества копий определенных участков ДНК. Данная технология позволяет детектировать делеции и дупликации экзонов, целых генов или протяженных участков хромосом, а также, определять число хромосом (анеуплоидии). За одну реакцию возможно определить количество копий до 50 различных участков ДНК (экзонов в одном гене или генов в определенном хромосомном локусе).

Целью работы являлось выявление методом MLPA делеций или дупликаций у пациентов с подозрением на различные наследственные болезни.

В работе использовали наборы зондов и реактивы компании MRC-Holland (Амстердам, Нидерланды). Анализ проводили с помощью автоматической системы капиллярного электрофореза SEQ8800 (Beckman Coulter, США).

Были выявлены следующие микроструктурные хромосомные перестройки: делеция в локусе 1p36 (синдром моносомии 1p36), делеция 4p16.3 (синдром Вольфа-Хиршхорна), делеция 7q11.2 (синдром Вильямса) у двух пациентов, делеция 17p13.3 (синдром Миллера-Дикера), делеция 17p11.2 (синдром Смит-Магенис), делеция 22q11.2 (синдром ДиДжорджи), дупликация в локусе 22q11.2. У двух мужчин выявлена дисомия по X хромосоме (синдром Клайнфельтера). При обследовании 3 пациентов с миодистрофией Дюшенна в двух случаях выявлены делеции отдельных экзонов гена *DMD*, в одном – мультиэкзонная дупликация. У пациента со спинальной амиотрофией выявлена делеция гена *SMN1* в гомозиготном состоянии. При проведении скрининга на галактоземию выявлен один случай гетерозиготного носительства мультиэкзонной делеции гена *GALT*.

Таким образом, метод мультиплексной лигазной цепной реакции позволяет эффективно выявлять и подтверждать целый спектр хромосомных и моногенных болезней.

Д.А. Иволгин, А.Б. Смолянинов

ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОТЫ ОБЩЕСТВЕННОГО РЕГИСТРА ДОНОРОВ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КРОВИ ПУПОВИНЫ И ЕЕ ЗАГОТОВКА

*Северо-Западный государственный медицинский университет
им. И.И. Мечникова; ООО «Покровский банк стволовых клеток»
Санкт-Петербург, ida59m@mail.ru*

Введение: Сегодня пуповинная кровь является стандартным источником стволовых клеток для трансплантации наряду с костным мозгом и периферической кровью. Наряду с большим количеством положительных свойств, пуповинная кровь обладает одним существенным недостатком - небольшим по сравнению с другими источниками количеством клеток что может повлиять на исход трансплантации.

Мероприятия по улучшению исходов трансплантации пуповинной крови проходят как на этапе трансплантационных центров, так и на этапе обработки пуповинной крови и её помещения на длительное криохранилище в банк пуповинной крови.

Цель исследования - разработка организационно-методических подходов по оптимизации деятельности общественного банка-регистра доноров пуповинной крови.

Материалы и методы: Основу работы составил ретроспективный количественный и качественный анализ образцов ПК, собранных в родовспомогающих учреждениях Санкт-Петербурга (n = 2809). В соответствии с методом выделения фракции ядродержащих клеток все образцы были разделены на 2 группы: I группа (n=1797) - выделение фракции ядродержащих клеток производилось с использованием модифицированного метода двойного центрифугирования и II группа (n=1012) - выделение фракции ядродержащих клеток проводилось с использованием автоматической системы «Seraх S100» («Biosafe», Швейцария).

В качестве критериев эффективности клинического применения образцов пуповинной крови нами использовались рекомендации Eurocord и CIBMTR: минимальная доза ядродержащих клеток до замораживания- $2,5 \times 10^7$ /кг массы тела пациента, после размораживания, минимум $2,0-2,5 \times 10^7$ /кг, минимальное количество CD34+ клеток- $1,2-1,7 \times 10^5$ /кг массы тела пациента.

Кроме того, в качестве показателя эффективности банка пуповинной крови