

**На правах рукописи**

**МАКСИМОВА**  
**Надежда Романовна**

**КЛИНИКО-ГЕНЕАЛОГИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-  
ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭТНОСПЕЦИФИЧЕСКИХ  
ФОРМ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПАТОЛОГИИ У ЯКУТОВ**

**03.00.15 – генетика**  
**14.00.09 - педиатрия**

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук

Томск - 2009

Работа выполнена в Учреждении Российской академии медицинских наук  
Якутском научном центре комплексных медицинских проблем Сибирского  
отделения РАМН и Учреждении Российской академии медицинских наук  
НИИ медицинской генетики Сибирского отделения РАМН

Научные консультанты: академик РАМН, доктор медицинских наук,  
профессор **Пузырев Валерий Павлович**,  
доктор биологических наук  
**Степанов Вадим Анатольевич**

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор  
**Назаренко Людмила Павловна**  
доктор медицинских наук, профессор  
**Филиппов Геннадий Пантелеевич**  
доктор медицинских наук, профессор  
**Асанов Алий Юрьевич**

Ведущая организация: Медико-генетический научный центр РАМН

Защита состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2009 года в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссер-  
тационного совета ДМ001.045.01 при НИИ медицинской генетики СО РАМН  
по адресу: 634050, г. Томск, Набережная р. Ушайки, д. 10.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке  
НИИ медицинской генетики СО РАМН, г. Томск

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2009 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор биол. наук



Кучер А.Н.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Среди факторов, определяющих уровень здоровья популяций человека, наследственным заболеваниям отводится существенная роль, достигающая по некоторым оценкам 20% (Вельтишев и др., 2007). Поэтому исследование количественных и качественных характеристик груза наследственной патологии и механизмов его формирования в различных регионах страны представляется важной проблемой.

В этиологии детской инвалидности и ограничений жизнедеятельности значительная доля принадлежит наследственным факторам. Так, в Республике Саха (Якутия) среди причин детской инвалидности на первом месте (28,5%) стоят врожденные пороки развития, на втором - заболевания нервной системы (23,9%), на третьем – психические расстройства (11,9%). По данным Росстата среди причин младенческой смертности врожденные пороки развития занимают второе-третье место в Республике Саха (Якутия) и в целом по Российской Федерации. Остается значительной доля врожденных и наследственных заболеваний среди причин детской смертности (в возрасте до 5 лет), в структуре которой на долю хромосомных болезней приходится 2-3% (Новиков, 2008).

Необходимо учитывать, что подходы к диагностике и профилактике наследственных и врожденных заболеваний постоянно совершенствуются, расширяются возможности их применения в разных областях медицинской практики. В настоящее время в отношении лечения наследственной патологии обозначены подходы (патогенетический и генная терапия), сформированы предпосылки к осуществлению генотерапии. И одной из основных задач современной педиатрии и медицинской генетики в настоящее время является установление молекулярно-генетических причин возникновения и развития моногенных заболеваний.

При проведении генетико-эпидемиологических, а также молекулярно-генетических исследований по поиску генов наследственных заболеваний важно учитывать особенности формирования популяций и факторы популяционной динамики. Считается, что при проведении работ по картированию моногенных заболеваний человека предпочтение следует отдавать изолированным популяциям, с так называемым «эффектом основателя» (Seffield et al., 1998; Пузырев, 2003; Peltonen et al., 2006; Наследственные болезни..., 2002; Гинтер, 1978; Зинченко и др., 2007; Кириллов, 2008). Якутское население относится именно к таким популяциям и является удобным объектом для картирования и идентификации новых генов наследственных заболеваний.

Длительное время для якутских популяций были характерны расселенность на обширной территории небольшими по численности группами, низкая плотность населения и высокий уровень рождаемости, что благоприятствовало проявлению эффектов дрейфа генов. В настоящее время территориальные группы якутов отличаются по антропологическому составу, по языковым диалектам, выражена генетическая гетерогенность территориальных групп, по-разному проявляющаяся для разных классов маркеров. Высокий уровень генетической дифференциации якутских популяций, подтвержден данными о фамильной структуре сельских популяций Якутии, о полиморфизме аутосомных

локусов и (СТG)n-участка гена *DMPK*, о неравномерности распространенности наследственной патологии (Ноговицына, 2001; Максимова, 2002; Хитринская и др., 2003; Данилова и др., 2005; Тарская и др., 2004; Федорова и др., 2005; Кучер и др., 2007). В то же время низкий уровень генетического разнообразия в популяциях якутов, по сравнению с другими популяциями Евразии, был выявлен при анализе линий митохондриальной ДНК, Y-хромосомы и на основании данных о полиморфизме (СТG)n-повторов гена *DMPK* в популяциях Якутии (Попова и др., 2002; Пузырев и др., 2003; Pakendorf et al., 2003, 2006; Федорова и др., 2005; Харьков и др., 2008; Федорова, 2008). Проведенные ранее в Якутии генетико-эпидемиологические исследования выявили высокую частоту и широкий спектр наследственной патологии, а также накопление отдельных форм моногенной патологии: спиноцеребеллярной атаксии 1-го типа, миотонической дистрофии, наследственной энзимопенической метгемоглобинемии I типа и т.д. (Ноговицына, 2001; Назаренко и др., 2001; Тарская, 2004; Брахфогель, 2000; Платонов и др., 2004; Захарова, 1982; Банщикова, 2002; Сухомясова, 2005; Галеева и др., 2006; Барашков, 2007; Яковлева, 2008). Следующим этапом более глубокого изучения частоты и спектра наследственной патологии в регионе, особенно редких форм наследственных заболеваний, является длительное и динамическое наблюдение за больными и их семьями при помощи территориального генетического регистра наследственной и врожденной патологии (Гинтер, 2003; Наследственные болезни ..., 2002; Пузырев и др., 2000).

Исследования, посвященные комплексному медико-генетическому изучению моногенной патологии на основе территориального регистра наследственной и врожденной патологии с применением молекулярно-генетических методов, в республике ранее не проводились. Таким образом, является актуальным проведение комплексного генетико-эпидемиологического исследования наследственной патологии с привлечением молекулярно-генетических методов исследования в РС(Я) с целью дальнейшего планирования и организации медико-генетической помощи населению Якутии.

**Цель исследования:** клинико-генеалогический анализ этноспецифической наследственной патологии в Республике Саха (Якутия), изучение молекулярно-генетической основы якутских наследственных болезней и раскрытие механизмов их накопления.

**Задачи исследования:**

1. Оценить частоту и спектр наследственных заболеваний на основе созданного Республиканского генетического регистра наследственной и врожденной патологии Республики Саха (Якутия), провести анализ распространенности пяти наследственных заболеваний в улусах республики.
2. Провести клинико-генеалогический анализ заболеваний, вызванных динамическими мутациями: спинально-бульбарной амиотрофии Кеннеди, атаксии Фридрейха, окулофарингеальной миодистрофии.
3. Провести поиск мутаций в генах наследственных заболеваний, вызванных динамическими мутациями: спинально-бульбарной амиотрофии Кеннеди, атаксии Фридрейха, окулофарингеальной миодистрофии.

4. Представить клинико-генеалогическую характеристику двух частых наследственных форм низкорослости у якутов.
5. Провести поиск кандидатных генов и идентификацию мутаций для заболеваний с низкорослостью у якутов.
6. Установить популяционные частоты найденных мутаций, оценить время возникновения мутаций в генах этноспецифических наследственных заболеваний у якутов.
7. Выявить популяционно-генетические механизмы накопления наследственных заболеваний на основании построения гаплотипов в локусах исследуемых болезней с привлечением микросателлитных маркеров.
8. Разработать алгоритм медико-генетического консультирования, пренатальной диагностики с использованием молекулярно-генетических методов диагностики для заболеваний с динамическими мутациями и для редких синдромов с низкорослостью.

**Научная новизна.** В ходе выполнения получены новые знания о распространенности и клинико-генеалогических особенностях заболеваний, вызванных динамическими мутациями: окулофарингеальной миодистрофии, атаксии Фридрейха, спинально-бульбарной амиотрофии Кеннеди в Республике Саха (Якутия). В результате выполнения работы впервые проведен молекулярно-генетический анализ вариабельности генов *PABPN1* при окулофарингеальной миодистрофии, *AR* при болезни Кеннеди, *FRDA* при атаксии Фридрейха и найдены мутации, вызывающие эти заболевания в якутской популяции. Впервые изучена частота редкого якутского синдрома низкорослости (ЯСН, 3-М синдром) в якутской популяции и описан фенотип якутских больных. Впервые проведено картирование гена, поиск кандидатного гена и идентификация мутации, вызывающей якутский синдром низкорослости у якутов. Название «якутский синдром низкорослости» зарегистрировано в электронной международной базе МакКьюсика (OMIM) как альтернативное названию болезни 3-М-синдром. Впервые дано клинико-генеалогическое описание нового синдрома низкорослости с колбочковой дисфункцией, атрофией зрительных нервов и пельгеровской аномалией у якутов и изучена его распространенность в якутской популяции. Впервые проведено картирование кандидатного гена для нового синдрома, открыт ген и идентифицирована мутация, вызывающая синдром низкорослости с колбочковой дисфункцией, атрофией зрительных нервов и пельгеровской аномалией лейкоцитов. Новому синдрому дано название SCOP синдром (Short stature syndrome with Cone dysfunction, Optic atrophy and Pelger-Huet anomaly). Рассмотрены механизмы накопления этноспецифических форм наследственной патологии (ОФМД, ЯСН, SCOP синдрома) в популяциях Якутии на основании построения гаплотипов в локусах генов исследованных болезней с помощью микросателлитных маркеров. Впервые оценен возраст идентифицированных мутаций в генах *CUL7* и *NAG* в якутской популяции.

**Практическая значимость.** Создан Республиканский регистр наследственной и врожденной патологии на базе медико-генетической консультации РБ№1-НЦМ. На основании клинико-генеалогических и молекулярно-генетических методов диагностики выделены две новые формы низкорослости

у якутов: якутский синдром низкорослости и синдром низкорослости с колбочковой дисфункцией сетчатки, атрофией зрительных нервов и пельгеровской аномалией лейкоцитов. В практику медико-генетического консультирования внедрена ДНК-диагностика ОФМД, болезни Кеннеди, атаксии Фридрейха, ЯСН. На основе полученных результатов предложен и внедрен в практику алгоритм диагностики пяти наследственных заболеваний: ОФМД, болезни Кеннеди, атаксии Фридрейха, ЯСН и SCOP синдрома. Результаты работы используются в преподавании курса медицинской генетики для студентов МИ ЯГУ и врачей на курсах повышения квалификации МИ ЯГУ.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. В якутской популяции имеется накопление некоторых форм редкой аутосомно-рецессивной, X-сцепленной рецессивной и аутосомно-доминантной наследственной патологии. В ходе исследования выявлено пять этноспецифических наследственных заболеваний у якутов, которым присвоено название «якутские наследственные болезни»: спинально-бульбарная амиотрофия Кеннеди, атаксия Фридрейха, окулофарингеальная миодистрофия, якутский синдром низкорослости, синдром низкорослости с колбочковой дисфункцией, атрофией зрительных нервов и пельгеровской аномалией лейкоцитов.
2. Распространенность ОФМД (11 на 100 тыс. нас.) и болезни Кеннеди в отдельных улусах республики (408,7 и 106,6 на 100 тыс. мужчин) превышает мировые значения в десятки раз. Показатели распространенности синдрома ЯСН и SCOP синдрома получены в мире впервые (12,72 и 9,95 на 100 тыс. нас., соответственно) и позволяют отнести оба редких в мире заболевания к частым наследственным заболеваниям у якутов. АФ зарегистрирована в популяции якутов, относящихся к азиатской расе, где ранее не было описано случаев болезни.
3. Клинико-генеалогическая характеристика больных с ОФМД, болезнью Кеннеди и АФ в РС (Я) сопоставима с клиникой больных, описанных ранее. Молекулярно-генетическими причинами болезней, вызванных динамическими мутациями у якутов являются экспансии  $(GCG)_{10}$  в гене *PABPN1* при ОФМД,  $(CAG)_n$  в гене *AR* при болезни Кеннеди и  $(GAA)_n$  в гене *FRDA* при АФ.
4. Основными причинами (40%) низкорослости в якутской популяции якутов являются 3-М синдром и новый синдром низкорослости с колбочковой дисфункцией, атрофией зрительных нервов и пельгеровской аномалией лейкоцитов. Распространенность обеих форм низкорослости в якутской популяции - 22,7 на 100 тыс. населения, среди детей – 67,5 на 100 тыс. населения. Клиника ЯСН у якутских больных сходна с клиникой ранее описанных больных с 3-М синдромом, за исключением дистресс-синдрома у новорожденных. Мутации 4582insT в гене *CUL7* и G5741→A в гене *NAG* являются единственными молекулярно-генетическими причинами двух форм низкорослости, особенно часто встречающихся в якутской популяции.
5. Основными популяционными механизмами накопления наследственных заболеваний в якутской популяции являются дрейф генов и эффект основателя.
6. Республиканский генетический регистр наследственной и врожденной патологии, созданный в ходе исследования, позволяет решать задачи накопления

эпидемиологической информации о нозологической структуре, диспансеризации семей с наследственными заболеваниями, пре- и постнатальной диагностики и профилактики наследственной патологии у детей, а также проводить генетический мониторинг населения.

**Апробация работы.** Основные материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на всероссийской научно-практической конференции «Современные достижения клинической генетики» (Москва, 2003); научно-практической конференции «Генетические аспекты патологии человека. Проблемы сохранения генофонда коренных народов Севера» (Якутск, 2005); на V съезде Российского общества медицинских генетиков (Уфа, 2005); на II межрегиональной научно-практической конференции «Экология и здоровье человека на Севере» (Якутск, 2007); на VIII научной конференции «Генетика человека и патология» (Томск, 2007); на межрегиональной научно-практической конференции «Здоровье детей Севера» (Якутск, 2008); на XIII международной конференции «Геном человека» (Индия, 2008); на российской научно-практической конференции «Современные проблемы клинической генетики» (Москва, 2008); Первом молодежном инновационном конвенте (Москва, 2008); на научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицинской генетики на Крайнем Севере» (Якутск, 2009); межлабораторных семинарах НИИ мозга Университета г. Ниигаты (Япония, 2005, 2006, 2008); межлабораторных семинарах ЯНЦ КМП СО РАМН (Якутск, 2007, 2008, 2009); межлабораторном семинаре НИИ медицинской генетики СО РАМН (Томск, 2009).

**Внедрение в практику здравоохранения.** Материалы диссертации внедрены в работу медико-генетической консультации РБ№1-НЦМ Республики Саха (Якутия), а также включены в учебный процесс для студентов, в программу обучения ординаторов, интернов, врачей на кафедрах детских болезней, педиатрии, неврологии, курса медицинской генетики МИ ЯГУ. Научно обоснованные рекомендации по клинической и молекулярно-генетической диагностике и профилактике пяти якутских наследственных заболеваний внедрены в практику МГК РБ№1-НЦМ. Получен патент Российской Федерации № 2315310 «Способ диагностики 3-М синдрома в якутской популяции». По результатам исследования название заболевания «якутский синдром низкорослости» внесено в международный электронный каталог OMIM как альтернативное названию синдром 3-М.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 73 работы, из которых 13 статей в журналах, рекомендованных для опубликования работ при защите диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук, одна статья в международном журнале, 43 публикации - в виде тезисов и статей в материалах международных и российских научно-практических конференций. Получен патент РФ на изобретение.

**Структура и объем работы.** Диссертация изложена на 424 страницах машинописного текста. Данные проиллюстрированы таблицами (68), рисунками (67) и приложениями (8). Библиографический указатель включает 375 источников литературы, из них 126 работ отечественных авторов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено генетико-эпидемиологическое и молекулярно-генетическое исследование на основании созданного в МГК РБ№1-НЦМ Республиканского генетического регистра наследственной и врожденной патологии (табл.1).

Таблица 1

### Характеристика и численность выборки исследованных больных, включенных в клинико-генеалогический и молекулярно-генетический анализ

Нозология	Группы	Количество, человек	Количество образцов ДНК
Окулофарингеальная миодистрофия	- больные	40	40
	- родственники	59	59
	- семей	35	
Атаксия Фридрейха	- больные	9	12
	- родственники	20	20
	- семей	9	
Спинально-бульбарная амиотрофия Кеннеди	- больные	6	6
	- родственники	10	10
	- семей	4	
Якутский синдром низкорослости	- больные	43	43
	- родственники	39	39
	- семей	37	
	- популяционная выборка, всего, из них		651
	<i>центральные якуты</i>		110
	<i>виллюйские якуты</i>		116
	<i>северные якуты</i>		100
	<i>эвены</i>		50
	<i>эвенки</i>		50
	<i>юкагиры</i>		25
<i>русские из Томска</i>		100	
<i>буряты из Бурятии</i>		100	
Синдром низкорослости с колбочковой дисфункцией, атрофией зрительных нервов и пельгеровской аномалией лейкоцитов	- больные	34	43
	- родственники	35	64
	- семей	31	300
	- популяционная выборка, всего, из них		300
	<i>якуты</i>		200
<i>японцы</i>		100	
Всего	- больные	132	144
	- родственники	163	192
	- семей	116	
	- популяция		951
	всего	295	1287

**Клинико-генеалогическая характеристика больных и семей с наследственной патологией.** *На первом этапе* основным источником информации о семьях с больными с наследственными заболеваниями служил Республиканский генетический регистр наследственной и врожденной патологии и сведения, полученные в ходе экспедиционных обследований населения улусов, из центральных улусных больниц, медико-социальной экспертной комиссии. В исследование распространенности наследственных заболеваний включены данные о 50 больных с диагнозом ОФМД из 45 семей, из которых 48 больных из 43 якутских семей, 6 больных со спинально-бульбарной амиотрофией Кеннеди из 4 якутских семей и 12 больных из 12 семей с атаксией Фридрейха, из которых 11 были якутами. Структура низкорослости была рассмотрена на примере 250 больных, зарегистрированных в медико-генетической консультации РБ№1-НЦМ с наследственными заболеваниями с задержкой роста. Было выделено 2 отдельные группы больных с нанизмом. Первая группа нанизма включала 55 больных из 46 якутских семей и характеризовалась лицевыми дизморфиями, пре и постнатальной гипоплазией, нормальным интеллектом, без эндокринологических нарушений и аутосомно-рецессивным типом наследования. Вторая группа включала 43 больных из 40 якутских семей с лицевыми дизморфиями, низким ростом, микромелией стоп и кистей, частичной атрофией зрительных нервов, колбочковой дисфункцией и пельгеровской аномалией лейкоцитов с аутосомно-рецессивным типом наследования. Распространенность всех пяти наследственных заболеваний рассчитана по республике в целом и по отдельным улусам, по этническим группам, исходя из численности населения по данным Всероссийской переписи 2002 г.

*На втором этапе* исследования проведено комплексное клинико-генеалогическое обследование пробандов и их родственников на базе МГК РБ№1-НЦМ с заполнением специально составленного протокола для каждого отдельного заболевания (табл.1).

*На третьем этапе* для верификации диагноза проводились лабораторные, функциональные методы исследования, осмотр специалистов. Диагноз ОФМД, АФ, спинально-бульбарной амиотрофии Кеннеди был выставлен согласно современной классификации нервно-мышечных заболеваний (Гринио, Агафонов, 1997; Лобзин, 1998) и основывался на семейном анамнезе, общепринятых клинических критериях ОФМД, а также данных дополнительных исследований и консультаций специалистов.

**Молекулярно-генетические методы анализа.** Молекулярно-генетическая часть работы (исследования по анализу мутаций, гаплотипа с использованием микросателлитных STR-локусов в генах ОФМД, АФ, болезни Кеннеди, по картированию гена, идентификации мутации и анализу по генетическому неравновесию в генах двух форм нанизмов) выполнялась совместно с японскими коллегами в НИИ мозга Университета г.Ниигата (Япония) в период с 2004 по 2008 гг., в отделе молекулярной генетики ЯНЦ КМП СО РАМН (сбор и выделение ДНК, популяционно-генетические исследования) и в НИИ медицинской генетики СО РАМН (популяционно-генетические исследования бурятов и русских Томской области). В совокупности исследовано 1287 образцов

ДНК, в том числе 144 образца ДНК больных с различными наследственными заболеваниями и 192 образца ДНК клинически здоровых родственников, а также 951 образец ДНК здоровых людей различных национальностей (табл.1). ДНК выделяли из 10 мл периферической крови стандартным методом с использованием протеиназы К и последующей фенольно-хлороформной экстракцией (Медицинские лабораторные технологии, 1999).

*Анализ заболеваний, вызванных динамическими мутациями.* Амплификация областей генов, содержащих tandemные тринуклеотидные повторы, осуществлялась в процессе ПЦР с помощью ранее описанных методик при ОФМД (Bouchard et al., 1997), АФ (Campuzano et al., 1996), болезни Кеннеди (La Spada et al., 1991). Результаты амплификации для ОФМД и болезни Кеннеди оценивали в автоматическом ДНК-анализаторе ABI PRISM 310 (Applied Biosystems), для АФ – в 1% агарозном геле.

Прямая идентификация типа мутации в гене *PABPN1*. С целью идентификации типа мутации в гене *PABPN1* после амплификации необходимых фрагментов ДНК методом ПЦР в 20 мкл объема и состава реакционной смеси описанной ранее проводилось разделение аллелей методом электрофореза в 1,5% агарозном геле (Takara) в течение 1,5 часов при 100 Вт и вырезание аллель-специфических бендов из геля. Затем ДНК выделяли из агарозного геля набором Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega) и субклонировали в плазмидный вектор (pGEM-T Easy Vector, Promega). По шесть клонов для каждого аллеля были очищены с помощью набора QIAprep Miniprep (QIAGEN). Продукты амплификации были очищены с помощью флюоресцентного дидеокси-терминационного метода (DyeEx 2.0 Spin Kit (QIAGEN)) и просеквенированы на автоматическом ДНК-анализаторе 3100 (Applied Biosystems). Анализ результатов секвенирования проводился с помощью нормального сиквенса человека по базе данных NCBI.

Анализ гаплотипов в локусе окулофарингеальной миодистрофии. Для анализа гаплотипов были использованы высокополиморфные СА-маркеры находящиеся на равном расстоянии в локусе гена *PABPN1*, подобранные с помощью базы UCSC Genome Browser. Физическая и генетическая локализация на хромосомах и генетическая дистанция между соседними маркерами была определена на основании данных из базы генетической карты сцепления Marshfield. Результаты амплификации оценивали в автоматическом ДНК-анализаторе ABIPRISM 310 и 3100 (Applied Biosystems).

Быстрая идентификация мутаций в генах *PABPN1*, *AR* или ДНК-диагностика ОФМД и болезни Кеннеди. Осуществляли методом ПЦР с вышеописанными праймерами и условиями ПЦР с последующим электрофорезом в 8% полиакриламидном геле (ОФМД) и в 1% агарозном геле (болезнь Кеннеди).

*Анализ генов двух синдромом с низкорослостью.* Поиск кандидатного гена для обеих форм наследственных нанизмов был проведен в несколько этапов. Первый этап - анализ по генетическому сцеплению с локусами генами других заболеваний, сходных по клинике. У 19 больных и их родственников из 5 семей в случае якутского синдрома низкорослости, у 17 больных из 7 семей в случае второго нанизма проведен молекулярно-генетический анализ для исключения

аллельных вариантов заболеваний низкорослости с пропорциональным скелетом и сходной клиникой (метафизарная хондродисплазия Маккьюсика, болезнь Ларона, нанизм Мюлибрея, ген *IGF1*). Для анализа были выбраны динуклеотидные маркеры, использованные ранее (Avela et al., 2000; Karlberg et al., 2000; Ridanpaa et al., 2001; Buckway et al., 2001; Kant et al., 2003).

Второй этап - полный геномный скрининг и картирование гена. Для полногеномного скрининга якутского синдрома низкорослости использована панель из 763 микросателлитных маркеров (ABI PRISM Linkage Mapping Set HD-5, Applied Biosystems), для нанизма с колбочковой дисфункцией, атрофией зрительных нервов и пельгеровской аномалией лейкоцитов - панель из 811 микросателлитных маркеров (ABI PRISM Linkage Mapping Set HD-5, Applied Biosystems), покрывающая все аутосомы со средним интервалом 4,6 сМ. Проведена ПЦР с использованием панели MapPair из микросателлитных маркеров и проанализирована на генетическом анализаторе 3100 (Applied Biosystems). Все размеры аллелей определены с помощью компьютерной программы GenScan (v.3.1.2. ABI) и GENEMAPPER (Applied Biosystems). Расчет мультилокусного лод-балла был проведен с использованием статистической программы ALLEGRO для всех локусов с частотой аллеля для аутосомно-рецессивного заболевания равной 0,001. Для анализа были использованы одинаковые частоты аллелей для полиморфных маркеров.

Частота 763 и 811 микросателлитных маркеров, использованных для обеих форм нанизма была определена при анализе 180 здоровых японцев (лаборатория отдела геномных исследований Центра биоресурсов, НИИ мозга, университет г.Ниигаты). Частота маркеров, находящихся на хромосоме 6: *D6S1549*, *D6S1672*, *D6S1017*, *D6S1552*, *D6S1582*, *D6S282*, *D6S271*, *D6S1604*, *D6S451*, *D6S1650* и хромосоме 2: *D2S168*, *D2S328*, *D2S2199*, *D2S2267*, *D2S149*, *D2S219*, *D2S312*, *D2S2295*, *D2S1360*, *D2S2375*, *D2S305*, *D2S2150* была определена дополнительно у 50 здоровых якутских индивидов, не связанных кровным родством. Физическая и генетическая локализация на хромосоме и генетическая дистанция между соседними маркерами была определена на основании данных из генетической карты базы Marshfield. Также, для сужения интервала между маркерами были созданы дополнительные два полиморфных маркера между маркерами *D6S1552* и *D6S1582* на 6 хромосоме и три полиморфных маркера между *D2S219* и *D2S2295* на 2 хромосоме, найденные с помощью базы данных на сайте UCSC Genome Browser on Human May 2004. Частота новых микросателлитных маркеров в якутской популяции определена при анализе 50 здоровых якутов, не связанных кровным родством.

Третий этап - идентификация мутаций в генах *CUL7*, *DDX1*, *NAG*. Для идентификации мутации в гене Куллин 7 (*CUL7*) было создано 25 пар олигопраймеров для амплификации 25 кодирующих экзонов гена *CUL7*, для идентификации мутации в гене полипептида 1 DEAD бокса (*DDX1*) - 24 пары олигопраймеров для амплификации 26 кодирующих экзонов гена *DDX1*, для идентификации мутации в гене белка амплифицированного при нейробластоме (*NAG*) - 52 пары олигопраймеров для амплификации 52 кодирующих экзонов гена *NAG*. Амплификацию необходимых фрагментов ДНК проводили методом ПЦР.

Продукты амплификации были очищены и секвенированы используя флюоресцентный дидеокси-терминационный метод (Big Dye Terminator v.3.0, PE Applied Biosystems) на автоматическом ДНК-анализаторе 3100 (Applied Biosystems). Анализ результатов секвенирования проводился с помощью программы BLAST.

**Четвертый этап. Идентификация мутации 4582insT в гене CUL7 с использованием ПДРФ-анализа.** Молекулярно-генетическая диагностика мутации 4582insT в гене *CUL7* проводилась методом ПЦР в 25 мкл общего объема смеси с праймерами: F: 5'-AGCAAAAGGATATACCAGGAG-3'; R: 5'-TCCGTCTCTTCTCCAAGTTC-3' при следующих условиях: первоначальная денатурация при 95<sup>0</sup> – 15 мин, 35 циклов амплификации: 94<sup>0</sup> -1 мин, 55<sup>0</sup> - 1 мин, 72<sup>0</sup> - 1 мин, заключительная элонгация при 72<sup>0</sup>-10 мин. Затем проводился ПДРФ-анализ с использованием эндонуклеазы *HinfI* (Сибэнзим) и последующим электрофорезом в 3% агарозном геле.

**Идентификация мутации G5741→A в гене NAG с использованием ПДРФ-анализа.** Молекулярно-генетическая диагностика мутации в 45 экзоне гена *NAG* проводилась методом ПЦР в 25 мкл объема смеси с праймерами: F: 5'-TTTTTAAGCTGTCTGTGGAAGACC-3'; R: 5'-CTCCAGATGATTCAAAGTATCTGC-3' при условиях ПЦР описанных выше. Затем проводился ПДРФ-анализ с использованием эндонуклеазы *HpyCH4III* (Тоубо) и электрофорезом в 3%-ном агарозном геле.

**Оценка возраста мутации.** Вначале проанализирована степень неравновесия по сцеплению по формуле (Bengtsson, Thomson, 1981):  $\delta = (P_D - P_N) / (1 - P_N)$ , где  $P_D$  и  $P_N$  - частоты аллеля на хромосомах, несущих мутацию и на нормальных хромосомах, соответственно с доверительным интервалом (Diaz et al., 2000). Для определения возраста мутации использовался подход «генетических часов» (Labuda et al, 1997), оценивающий количество поколений  $g$  с момента появления мутации в популяции до настоящего времени, исходя из изменения неравновесия по сцеплению полиморфных маркеров с локусом заболевания за этот период времени (Risch et al., 1995).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Изучение структуры и частоты наследственной патологии в Республике Саха (Якутия)** проведено на основании Республиканского генетического регистра наследственной и врожденной патологии, созданного на базе медико-генетической консультации Республики Саха (Якутия), где собрана и накоплена информация по наследственной и врожденной патологии с 2000 года. По данным регистра зарегистрировано более 2800 семей с наследственной и врожденной патологией, весь массив диагнозов включает около 130 нозологий. В настоящее исследование были включены только наследуемые формы, учтенные в регистре по состоянию на 1 ноября 2008 года. Весь спектр наследственной патологии включает 104 нозологии. Диагноз наследственного заболевания был выставлен 1247 больному из 854 семей, из них якутской национальности - 973 больных из 643 семей. Всего в регистре с наследственным заболеванием с АД типом наследования состоит на диспансерном учете 782 больных из 451 семьи, из которых 618 больных из 328 якутских семей. Среди болезней с АД типом на-

следования установлено 46 менделирующих заболеваний. Наиболее часто встречались спиноцеребеллярная атаксия 1-го типа, миотоническая дистрофия, невральная амиотрофия Шарко-Мари-Тус, нейрофиброматоз Реклингаузена, окулофарингеальная миодистрофия, синдром Марфана, синдром множественных экзостозов. Из всех перечисленных все, кроме нейрофиброматоза Реклингаузена и синдрома Марфана, встречаются в основном в якутских семьях. В МГК обратилось 319 больных из 274 семей, которым в ходе обследования в МГК РБ№1-НЦМ выставлен диагноз наследственного заболевания с АР типом наследования. 260 больных были из 227 якутских семьи. АР заболевания представлены 34 нозологическими формами патологии. Чаще других встречаются наследственный нанизм, метгемоглобинемия, нанизм с колбочковой дисфункцией, атрофией зрительных нервов и пельгеровской аномалией лейкоцитов и невральная амиотрофия Шарко-Мари-Тус. Учтено всего 12 нозологий с Х-сцепленным рецессивным типом наследования. На диспансерном учете 112 больных из 91 семьи, 81 из них из 74 якутских семей. Частыми в этой группе являются гемофилия А, ихтиоз и прогрессирующая мышечная дистрофия Дюшенна. Больных с Х-сцепленным доминантным типом наследования всего 5. 29 больных из 29 семей были консультированы по 10 нозологиям с неизвестным типом наследования.

#### **Болезни, вызванные динамическими мутациями**

**Окулофарингеальная миодистрофия (ОФМД, ОММ 164300).** Распространенность ОФМД в Республике Саха (Якутия) составляет 5,2 на 100 тыс. населения, в якутской популяции - 11,1 на 100 тыс. якутского населения, что превышает в 10 с лишним раз распространенность ОФМД в Европе (Braise et al., 1998). Имеет место локальное накопление заболевания в центральной и виллюйской группах улусов республики, преимущественно в Усть-Алданском районе, где частота ОФМД (1:2200) сопоставима с частотой в изолированной франко-канадской популяции (1:1000) (Braise et al., 2003).

В клинико-генеалогическое исследование включено 40 больных с клинически выставленным диагнозом ОФМД (19 женщин и 21 мужчина) из 35 семей. Средний возраст больных с ОФМД в момент обследования составил  $63,9 \pm 7,89$  лет. 38 (95%) больных были из 33 якутских семей, 2 (5%) – из русских. Средний возраст больных к периоду начала заболевания был  $49,95 \pm 8,30$  года (от 31 года до 65 лет), что сопоставимо с литературными данными - 50,1 лет (Codere et al., 2001). Ввиду пожилого возраста и длительного течения заболевания у больных, точный возраст начала первых клинических симптомов в большинстве случаев выяснить удается не всегда, из-за чего многие случаи болезни остаются недиагностированными (Ruegg et al., 2005).

При анализе родословных в 25 случаях выявляется аутосомно-доминантный тип наследования (рис. 1), в 15 – семейной отягощенности выявить не удалось.

Как первый симптом заболевания наибольшее число больных отмечало двусторонний птоз – 25 человек (52,5%), дисфонию - 5 (12,5%), дисфагию – 4 (10%), одновременный птоз и дисфагию - 4 (10%), в единичных случаях

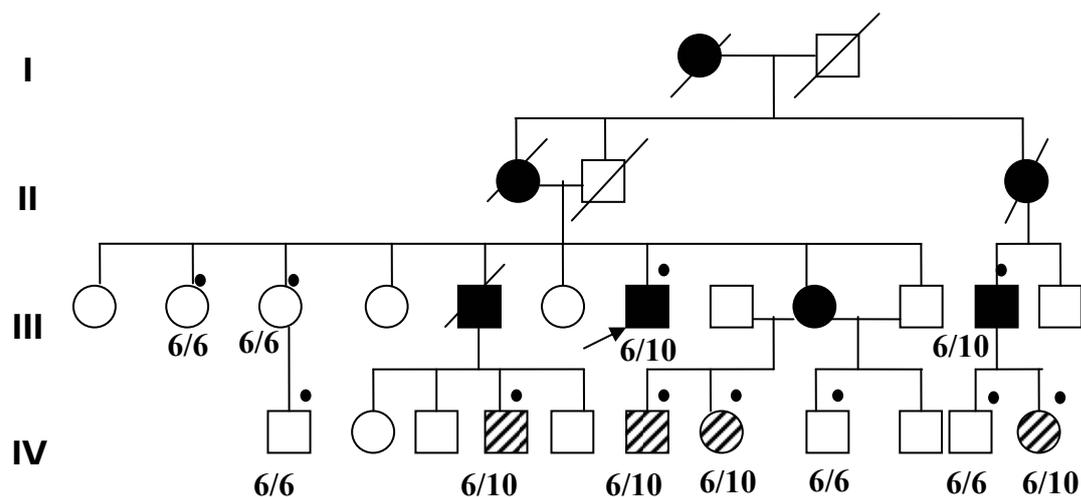


Рис. 1. Пример родословной семьи с ОФМД с результатами ДНК-диагностики. 6/6; 6/10 - результаты ДНК-анализа на мутацию в гене *PABPN1*; ● - лично обследованные пациенты; ■ - больной с ОФМД; □ - клинически здоровый; ▨ - клинически здоровый носитель мутации в гене *PABPN1*.

отмечалось начало заболевания с общей слабости (2,5%), птоза и дисфонии (2,5%). В клинической картине заболевания у большинства (97,5%) больных преобладал двусторонний птоз (полуптоз), наружная офтальмоплегия (67,5%), дисфагия (92,5%), дисфония (65%) и слабость мимической мускулатуры (35%). Результаты анализа клинической картины сопоставимы с данными из других стран мира (Sluijs et al., 2004; Meola et al., 1997; Medici et al., 1997; Fardeau, Tome, 1997; Bouchard et al., 1997; Blumen et al., 1993; Muller et al., 2001; Becher et al., 2001). Продолжительность заболевания была в среднем  $14,62 \pm 9,26$  года (варьировала от 2 до 34 лет). У большинства больных при длительном течении заболевания отмечаются гипотрофии нескольких групп мышц (лица, плечевого пояса, межлопаточных, проксимальных отделов конечностей), слабость верхних и нижних конечностей с легочными осложнениями (пневмония, хронический обструктивный бронхит). Пятерым больным проведена хирургическая коррекция птоза.

Для молекулярно-генетического исследования использована ДНК 40 больных с клиническим диагнозом ОФМД и их 59 клинически здоровых родственников из 35 неродственных семей. У всех тестируемых была проведена амплификация фрагмента ДНК, содержащего исследуемые области тринуклеотидных GCG-повторов в 1 экзоне гена *PABPN1*. В результате у всех 40 больных длина амплифицированного фрагмента одного из аллелей гена *PABPN1* соответствовала 245 п.н., длина второго – 257 п.н. (рис. 2, А). Из 59 клинически здоровых родственников 46 были гомозиготами по нормальному аллелю и имели аллель длиной 245 п.н. (рис. 2, Б), 13 - гетерозиготами и имели 2 аллели с длиной 245 п.н. и 257 п.н. Далее, для выяснения типа мутации в гене *PABPN1* у 17 больных и 1 здорового родственника из 17 неродственных семей (16 - якутских семей, 1 – русская) с мутацией проведено прямое секвенирование участка ДНК 1 экзона гена *PABPN1*.

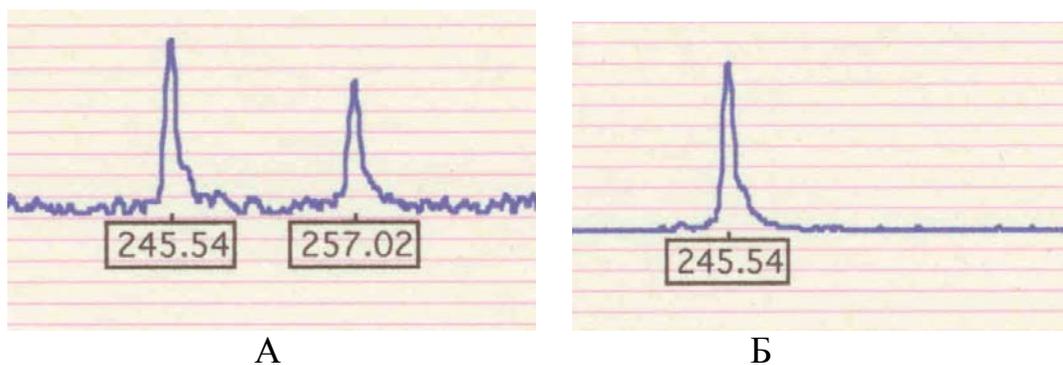


Рис. 2. Результаты электрофореза ДНК у больного с ОФМД (А) и у здорового (Б) на ДНК-анализаторе ABI PRISM 310 (Applied Biosystems). А – электрофореграмма больного с ОФМД, визуализируются 2 аллели: нормальный с длиной 245 п.н. (6 GCG-повторов) и патологическая аллель с 257 п.н. (10 GCG-повторов). Б - электрофореграмма здорового человека, визуализируется 1 нормальный аллель длиной 245 п.н. (6 GCG-повторов).

При исследовании нуклеотидной последовательности фрагментов ДНК была обнаружена мутация - экспансия тринуклеотидных GCG-повторов до 10 за счет дополнительной вставки 4 GCG -повторов (рис. 3).

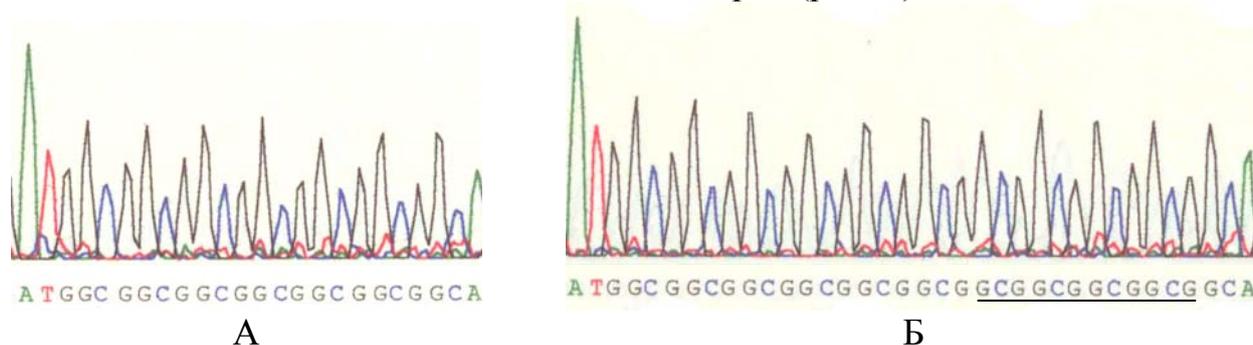


Рис. 3. Сиквенс участка 1 экзона гена *PABPN1* у здорового (А) и больного (Б) окулофарингеальной миодистрофией человека. У здорового 6 GCG-повторов. У больного происходит удлинение до 10 за счет добавления 4 GCG-повторов (подчеркнуто черной линией).

В «здоровом» аллеле длиной 245 п.н. выявлено 6 GCG-повторов, в мутантном аллеле длиной 257 п.н. – 10 GCG-повторов. У всех 17 обследованных больных и одной здоровой с мутацией в гене *PABPN1* выявлена одинаковая мутация в патологическом аллеле - экспансия GCG-повторов за счет добавления 4 GCG-повторов и 6 GCG-повторов в «здоровом» аллеле.

В 29 семьях (28 якутских и в одной русской) проведен анализ гаплотипов с использованием 9 STR-локусов, расположенных в локусе гена *PABPN1* приблизительно на одинаковом расстоянии друг от друга.

В каждой семье были выбраны больные с (GCG)<sub>10</sub> мутацией и здоровые члены семьи без мутации. Для выявления аллелей, ассоциированных с окулофарингеальной миодистрофией, проведен семейный анализ полиморфных маркеров и определен гаплотип, характерный для хромосом, несущих мутацию (GCG)<sub>10</sub>. Наиболее вероятным нам представляется следующий гаплотип осно-

вателя: *D14S1003 - D14S50 - D14S283 - D14S990 - D14S581 - D14S972 - D14S64 - D14S264 - D14S1041*: 2-3-3-1-2-2-5-3-2. Интересным является тот факт, что выявленный в русской семье гаплотип одинаков с гаплотипом, выявленным для всех 27 якутских семей. Данный гаплотип отличен от гаплотипов, обнаруженных в популяции латиноамериканцев США и евреев Бухары (Blumen et al., 2000; Becher et al., 2001), что говорит о различном происхождении найденной мутации.

Факт, что у всех исследованных больных было одинаковое удлинение до 10 GCG-повторов, позволяет с успехом применять метод ПЦР с последующим электрофорезом в 8% полиакриламидном геле в рутинной практике медико-генетического консультирования. Подтверждением клинического диагноза ОФМД служит обнаружение у больного на электрофореграмме двух различных фрагментов ДНК, один из которых имеет нормальный размер длиной 245 п.н. (6 GCG-копий), другой - патологически удлинен и соответствует длине более 251 п.н. (экспансии GCG-повторов более 8 копий). Обнаружение у клинически здорового человека удлиненного аллеля с более 8 GCG-повторами предполагает пресимптоматическое носительство мутантного гена окулофарингеальной миодистрофии. Метод опробован на всех пациентах и их родственниках. Все 40 больных были гетерозиготами и имели 2 аллеля длиной 245 п.н. (6 GCG-повторов) и 257 п.н. (10 GCG-повторов). Из 59 здоровых родственников, у 13 выявлено пресимптоматическое носительство мутации в гене *PABPN1*, остальные здоровы. Разработан алгоритм диагностики ОФМД с использованием прямой ДНК-диагностики ОФМД.

**Атаксия Фридрейха (АФ, OMIM 229300).** Общая частота АФ среди всего населения Республики Саха (Якутия) – 1,26 на 100 тыс. населения сопоставима с мировыми частотами (2-5 на 100 тыс. населения) (Palau, Espinos, 2006), также как и частота среди якутов 2,78 на 100 тыс. нас. Распространенность среди детского населения якутской национальной принадлежности – 7,5 на 100 тыс. детского населения.

Дебют болезни АФ наблюдался в среднем в возрасте  $4,7 \pm 2,07$  лет, варьируя с 2 до 9 лет. Все больные были с классическим фенотипом болезни, характеризовавшимся ранним началом, быстрым прогрессированием и сочетанием типичных неврологических и экстракраневральных проявлений.

Всем девяти больным и 20 родственникам из девяти семей проведен молекулярно-генетический анализ на мутацию в гене *FRDA* с применением удлиненной ПЦР. У больных была выявлено отсутствие аллеля в месте нормальных аллелей, то есть имеется экспансия тринуклеотидных GAA-повторов в 1-м интроне гена *FRDA* в гомозиготном состоянии, что является молекулярным подтверждением диагноза АФ, у их 20 родственников - в гетерозиготном состоянии. Разработан алгоритм диагностики атаксии Фридрейха в РС (Я) с применением молекулярно-генетических методов диагностики.

**Спинально-бульбарная амиотрофия Кеннеди или болезнь Кеннеди (OMIM 313200).** В республике болезнь Кеннеди встречается только среди якутского населения. Распространенность болезни среди якутов мужчин составила 2,8 на 100 тыс. якутов, что сопоставимо со средней частотой в мире - 2,5 на 100

тыс. (Andrew et al., 1997). Но в республике заболевание распространено неодинаково и зарегистрировано только в 3 улусах (Абыйском, Верхнеколымском, Нюрбинском). Частота в Верхнеколымском улусе (408,7 на 100 тыс. мужчин) намного превышает частоту, зарегистрированную в финской популяции с эффектом основателя (15,3 на 100 тыс. населения) (Udd et al., 1998).

Под нашим наблюдением находилось шесть больных из четырех неродственных якутских семей. Возраст больных от 33 до 60 лет, все имеют инвалидность II-III группы. В клинической картине болезни Кеннеди у якутов средний возраст начала заболевания ( $45,1 \pm 4,4$  лет) сопоставим со средним возрастом в других популяциях мира ( $44,8 \pm 10,1$  лет) (Guidetti et al., 2001). Клиническая картина сходна с клиникой больных описанных ранее.

Для молекулярно-генетического исследования использована ДНК 6 больных с клиническим диагнозом болезнь Кеннеди и 10 сибсов из 4 неродственных якутских семей, проведена амплификация фрагмента ДНК, содержащего исследуемые области тринуклеотидных CAG-повторов в 1 экзоне гена *AR* (рис. 4).

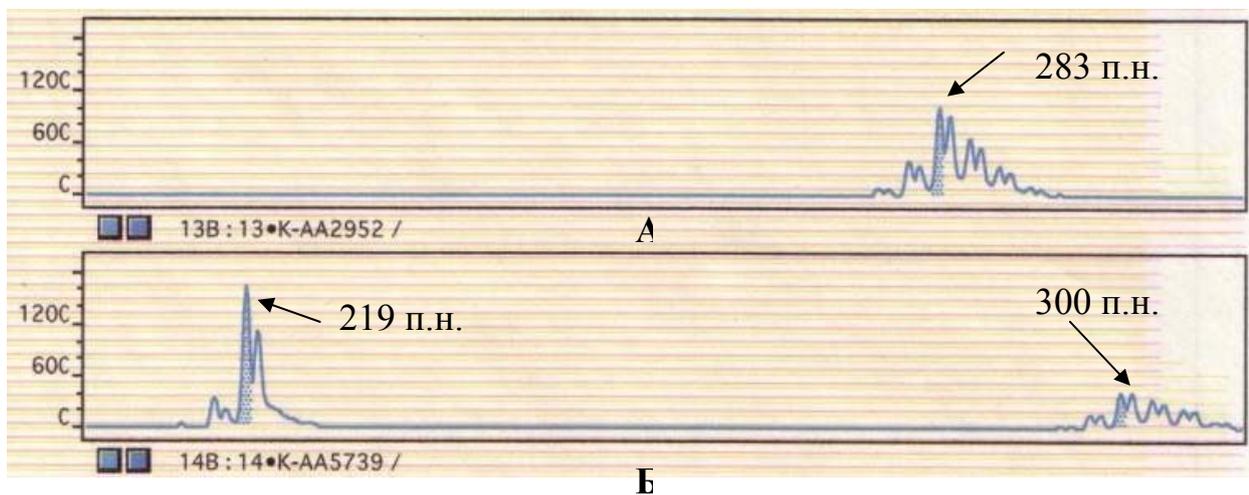


Рис. 4. Результаты ПЦР фрагментного анализа размеров аллелей на ДНК-анализаторе ABI PRISM 310. А – больной с болезнью Кеннеди с одним удлиненным аллелем до 283 п.н. (45 CAG-повторов). Б – гетерозиготная носительница болезни Кеннеди с двумя аллелями. Один аллель нормальной длины – 219 п.н. (24 CAG-повтора), второй удлиненный – 300 п.н. (51 CAG-повтор).

В результате у всех 6 больных длина амплифицированного фрагмента одного аллеля гена *AR* была более 38 CAG-повторов (рис. 4, А). Кроме того, у одной из сестер больных болезнью Кеннеди выявлено гетерозиготное носительство мутации в гене *AR* (рис. 4, Б).

Внедрен метод прямой ДНК-диагностики болезни Кеннеди, основанный на ПЦР с визуализацией в 1% агарозном геле, позволяет уточнить клинический диагноз, проводить дифференциальную и пресимптоматическую диагностику, гетерозиготное носительства среди женщин с целью ранней профилактики и дородовой диагностики заболевания в отягощенных семьях и на популяционном уровне. Разработан алгоритм диагностики болезни Кеннеди в РС (Я) с применением прямой ДНК-диагностики.

### Наследственные заболевания с низким ростом

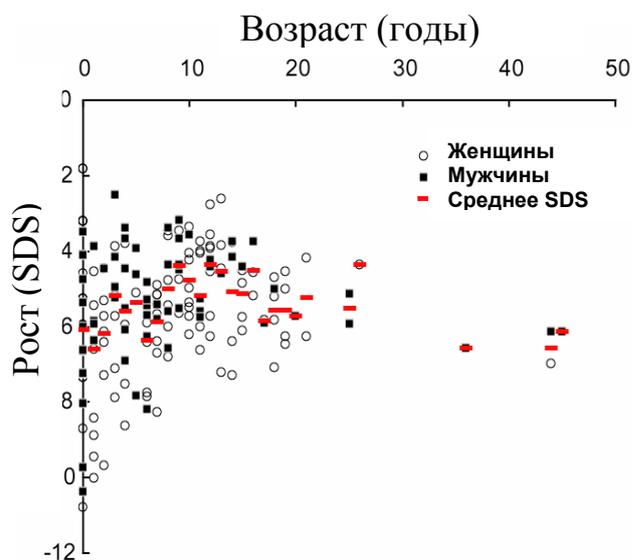
Патологически низкий рост является одной из частых причин обращения взрослых и детей в МГК РБ№1-НЦМ РС (Я) (Ноговицына и др., 1999). В Республиканском генетическом регистре наследственной и врожденной патологии зарегистрировано более 250 больных с различными наследственными и хромосомными формами низкорослости. 40% от всех случаев обращения с низкорослостью занимают 2 формы наследственных синдромов с низкорослостью. Всего 98 больных, из них 81 - дети до 15 лет (82,7%).

**Якутский синдром низкорослости (ЯСН).** Распространенность ЯСН среди якутов составляет 12,72 на 100 тыс. населения (1:7800), среди детей якутской национальности составила – 36,7 на 100 тыс. населения. Наибольшая частота ЯСН встречается в Ленском, Оленекском, Усть-Майском, Амгинском, Намском, Сунтарском улусах.

Проанализировано 43 генетические карты больных с якутским синдромом низкорослости из 37 неродственных семей. Все больные были коренной национальности (90% - якуты, 10% - эвены и эвенки от смешанных браков с якутами). 25 (58%) больных были женского, 18 (42%) мужского пола. Возраст больных варьировал от 0 до 45 лет. 88,4% больных (38) – дети в возрасте до 15 лет. Рост родителей у всех больных средний, в кровном родстве не состоят. Беременность при данной патологии протекала в основном гладко. Срок гестации при беременности варьировал от 35 до 42 недель (в среднем 37 недель); в 87% роды произошли в срок. У 18 детей (41,9%) была асфиксия в родах, и 11 (25,6%) новорожденным понадобились реанимационные мероприятия в родильном зале. В 5 семьях (11,6%) дети со схожими клиническими проявлениями, без видимых пороков развития умерли сразу же после рождения.

При рождении рост и масса тела 42 (97%) пациентов были низкими для гестационного возраста (средний рост -  $42 \pm 0,64$  см, средняя масса тела -  $2,33 \pm 0,07$  кг). Среднее стандартное отклонение (SDS) рост при рождении было  $-6,0 \pm 0,37$ , варьируя от -1,8 до -12,2 (рис. 5, А). В течение всей жизни среднее значение среднего стандартного отклонения длины тела варьирует от -4, 23 до -6,57. К 18 годам и старше рост больных достигал 133-138 см.

У всех больных (100%) был низкий рост с относительно большой головой гидроцефальной формы (81,4%), особенно выраженной в раннем детском периоде (рис. 5, Б). Такие признаки, как короткая и широкая грудная клетка, брахидактилия, микромелия кистей и стоп, выступающие пятки встречались у всех больных (100%). 95% больных имели характерный фенотип, включающий в себя лицо треугольной формы, широкий лоб, гипоплазию скуловых костей, запавшее переносье, мясистый нос, длинный фильтр, полные губы, выступающий подбородок, и широкую шею. Гидроцефальная форма головы, широкие густые брови, деформация грудины (килевидная или воронкообразная), поясничный лордоз, мышечная гипотония, гипермобильность мелких и крупных суставов встречались с частотой от 65% до 86%. Другие клинические признаки являлись наименее патогномичными для данного синдрома, и частота их варьировала в зависимости от возраста. Например, большой живот встречается у всех детей в возрасте только до 5 лет, особенно заметен в неонатальном периоде.



А



Б

Рис. 5. А - SDS (стандартное отклонение) роста 43 больных с ЯСН при рождении и в различные возрастные периоды жизни. Б - больные сибсы из одной семьи с ЯСН 9 и 11 лет.

Моторное развитие детей в основном протекало по возрасту, иногда с небольшим отставанием, в физическом развитии дети отставали с первых месяцев жизни. Интеллектуальное развитие соответствовало возрасту. В половом развитии пациенты не отстают от сверстников. Менструации у девочек начинаются в среднем в 12-13 лет, при ультразвуковом исследовании размеры матки и яичников соответствуют возрасту и размерам тела. Лабораторные показатели минерального обмена, гормонов щитовидной железы, гормонов роста - в пределах возрастных норм.

При рентгенологическом исследовании костный возраст слегка отстает в раннем детском возрасте (от 0 до 5 лет) и затем после 10 лет - соответствует паспортному возрасту, после 16 лет - опережает. По данным рентгенологической картины были описаны расширенные метафизы у 11 больных (25,6%), тонкие трубчатые кости у - 1 (2,3%), высокие позвонки и сниженный переднезадний диаметр в груднопоясничном отделах - у 4 (9,3%), закрытая спинномозговая грыжа у 9 больных (20, 9%).

При анализе 37 родословных в 11 случаях четко прослеживался аутосомно-рецессивный тип наследования: в семье было 2 и более пораженных сибсов или имелся родственник с похожим заболеванием.

*Молекулярно-генетический анализ.* У 19 больных и их родственников из 5 семей проведен анализ генетического сцепления с известными генами заболеваний, сходных по клинике. Применен метод гомозиготного картирования. В результате анализа все больные с данной формой нанизма не являются гомозиготами и не имеют одинаковых гаплотипов в локусах генов, вызывающих эти заболевания.

Полногеномный скрининг проведен с помощью панели из 763 микросателлитных маркеров на ДНК 39 больных и 39 их родственников из 33 неродственных якутских семей с ЯСН. В результате был определен кандидатный регион гена протяженностью  $\sim 2,7$  млн. п.н. в хромосомном регионе бр21.1 с максимальным мультилокусным лод-баллом, равным 24,6 (при частоте рекомбинаций  $\theta=0$ ) в локусе маркера *D6S282* (рис. 6, А). Анализ рекомбинационных событий определил в качестве центральной и теломерной границ области локализации гена маркеры *D6S1650* и *D6S1549*, соответственно.

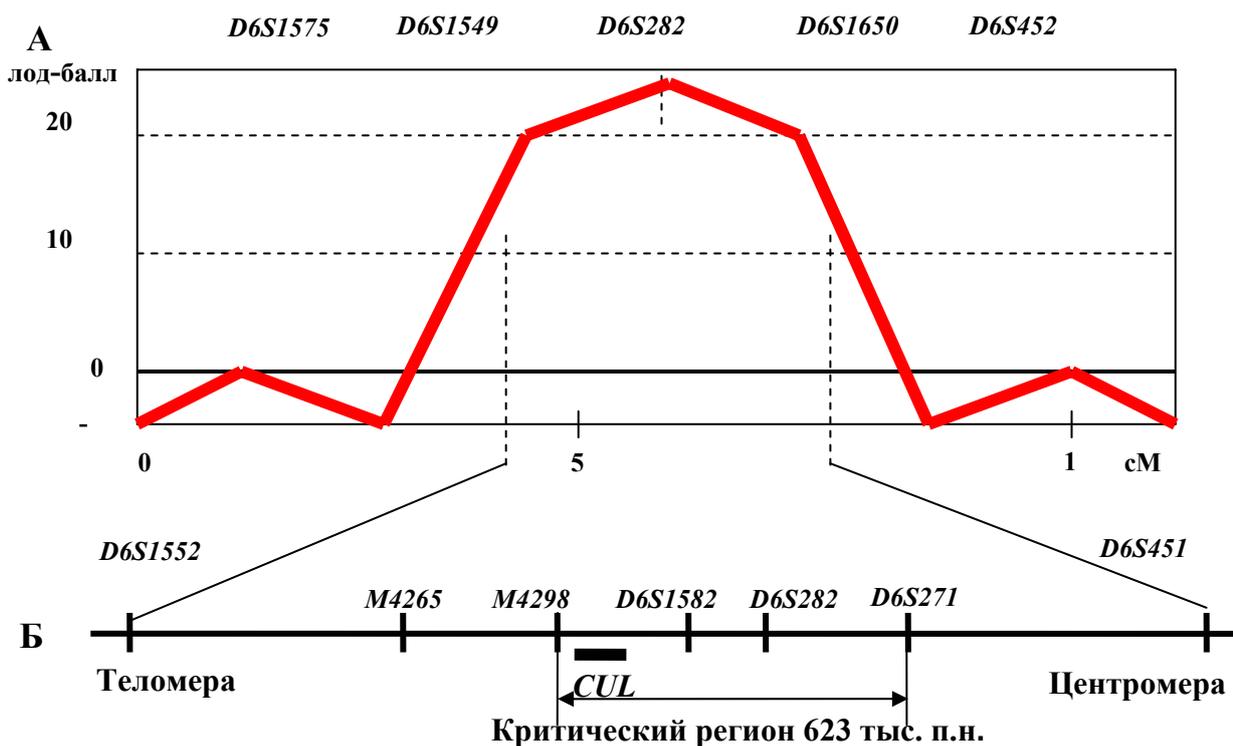


Рис. 6. Результаты расчета мультилокусного лод-балла на бр21.1 и физическая карта вовлеченных локусов при якутском синдроме низкорослости. А - максимальный лод-балл в локусе *D6S282*, равный 24,6. Б – кандидатный регион гена протяженностью  $\sim 623$  тыс.п.н., ограниченный маркерами *M4298* и *D6S271*.

Затем у 43 больных и 39 их родственников из 37 семей, основываясь на данных о возможном существовании эффекта основателя, вследствие которого редкий в мире аутосомно-рецессивный синдром получил высокое накопление в якутской популяции, был применен метод тонкого генетического картирования, основанный на реконструкции протяженных гаплотипов у ключевых членов из 37 семей. Для анализа были использованы 6 дополнительных полиморфных маркеров, выбранных между маркерами *D6S1549*, *D6S282*, *D6S1650* и представляющих собой высокоинформативные динуклеотидные СА-повторы: *D6S1672*, *D6S1017*, *D6S1552*, *D6S271*, *D6S1604*, *D6S451*. Все пациенты были гомозиготами только в области маркера *D6S282*. Следовательно кандидатный регион для гена расположен между маркерами *D6S1552* и *D6S271* и составил

~1,5 млн. п.н. (рис. 6, Б). Из 37 семей 24 семьи имели одинаковый гаплотип 7-5-5 в районе маркеров *D6S1552*, *D6S282* и *D6S271* в гомозиготном состоянии.

Среди пораженных sibсов отсутствие гомозиготности было обнаружено в 12 из 37 семей. А в семьях 15 и 23 это наблюдалось в области маркера *D6S271*. Эти результаты свидетельствуют о наличии сильного эффекта основателя, лежащего в основе данного синдрома, а гаплотип *D6S1549-D6S1672-D6S1017-D6S1552-D6S28-D6S271-D6S1604-D6S451-D6S1650*: 2-4-6-7-5-5-2-4-4 вероятно и является гаплотипом основателя. Затем, с помощью *D6S1582* и 2 дополнительных динуклеотидных маркеров *M4298* и *M4265* сузили границы кандидатного региона (рис. 6, Б). Все больные были гомозиготами в области маркера *D6S282*, гетерозиготами в области маркера *M4265* в семьях 16, 33, в области маркера *M4298* - в семье 16 и в области маркера *D6S271* в семьях 15 и 23. Все пациенты также были гомозиготами по аллелю 2 в области маркера *M4298*, кроме пациента 595 из 16 семьи. Тогда как ни один из 32 исследованных якутов из популяционной выборки не имел аллель 2. Со стороны теломерной части хромосомы границы кандидатного региона ограничены маркером *M4298*, со стороны центромерной части – маркером *D6S271*. Таким образом, кандидатный регион определился между маркерами *M4298* и *D6S271* и размер его составил 623 тыс.п.н. (рис. 6, Б).

В момент проведения данного исследования С. Хубер и соавт. идентифицировали ген *CUL7*, ответственный за развитие 3-М синдрома (Huber et al., 2005). Данный ген находился в критическом регионе. Так как клинические проявления у наших пациентов были схожи с клиникой редкого в мире 3-М синдрома, мы решили, что данный ген является хорошим кандидатом для ЯСН. Проведено полное прямое секвенирование 25 кодирующих экзонов гена *CUL7* и прилегающих к ним экзон-интронных участков. Была обнаружена новая мутация - инсерция Т в 4582 положении в 25 экзоне (рис. 7, Б), не описанная ранее (Huber et al., 2005, 2009).

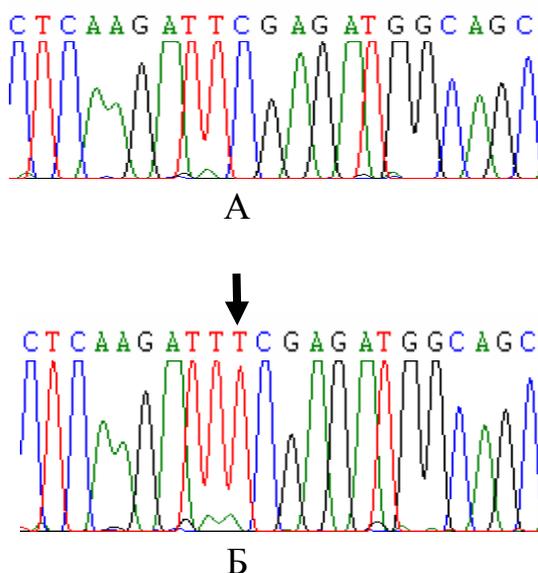


Рис.7. Фрагмент результатов автоматического секвенирования области 25 экзона гена *CUL7*. А – норма. Б – патология, с мутацией 4582insТ в гомозиготном состоянии, стрелкой помечена вставка Т в позиции 4582.

Эта мутация приводит к сдвигу рамки считывания кодона и последующему преждевременному стоп-кодону в положении 1553(Q1553X). Было установлено, что у всех 43 обследованных больных мутация 4582insT находится в гомозиготном состоянии, а у их 34 родителей и сибсов – в гетерозиготном состоянии, у 5 сибсов мутации не выявлено.

Найдена единственная мутация 4582 insT в гене *CUL7*, приводящая к потере сайта рестрикции эндонуклеазы *HinfI*, что позволило нам разработать способ быстрой идентификации патологической мутации методом ПЦР и ПДРФ (рис. 8).

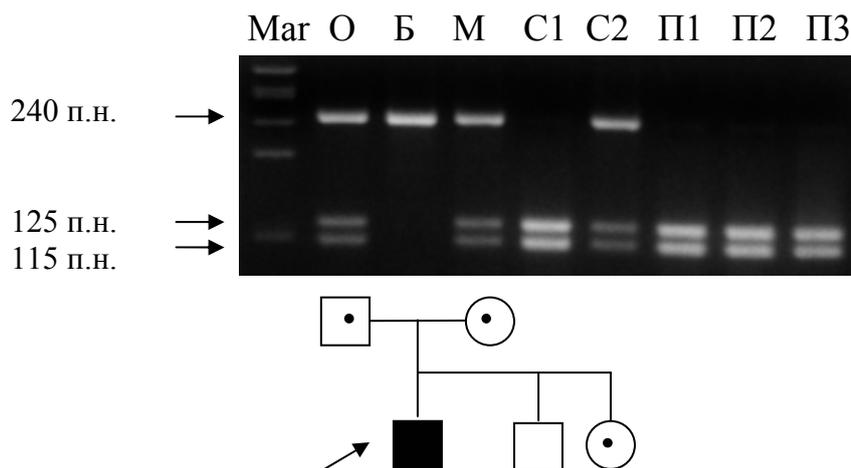


Рис. 8. Результаты электрофореза в 3% агарозном геле после ПДРФ с рестриктазой *HinfI*. Mar - маркер; Б – больной пробанд, гомозигота (240 п.н.); О (отец), М (мать), С2 (сибс) – здоровые гетерозиготные носители (240, 125 и 115 п.н.); С1 (сибс) и П1, П2, П3 (здоровые якуты) - здоровые (115 и 125 п.н.).

В норме должны образовываться фрагменты 125+115 п.н., в случае носительства в гомозиготном состоянии (больной) - вместо фрагментов 125 +115 п.н. образуется фрагмент длиной 240 п.н. В случае гетерозиготного носительства мутации (здоровый носитель) длины фрагментов будут 240+125+115 п.н. Было установлено, что у всех 43 обследованных больных мутация 4582insT находится в гомозиготном состоянии, у их 34 обследованных родителей и сибсов - в гетерозиготном, а у 5 сибсов - мутация не обнаружена.

Получен патент Российской Федерации № 2315310 «Способ диагностики 3-М синдрома в якутской популяции». Способ применен при популяционных исследованиях и при проведении 2 случаев пренатальной ДНК-диагностики в медико-генетической консультации РС (Я).

*Популяционные исследования частоты мутации 4582insT в гене CUL7 в популяциях Республики Саха (Якутия) и Сибири.* Всего было прогенотипировано 326 ДНК якутов, примерно одинаковое количество ДНК якутов было взято из 3 групп якутов: вилюйской, центральной и северной групп республики. Частота мутации 4582insT у якутов из центральных улусов Якутии составила 3,2%, у якутов из северных улусов – 1,0%, у якутов из вилюйской группы улусов – 0,4%. Таким образом, общая популяционная частота мутации 4582insT в гене

*CUL7* в якутской популяции составила 1,5%, а частота гетерозиготного носительства – 3%. Среди 100 прогенотипированных хромосом эвенков и эвенков и 50 хромосом юкагиров, проживающих в РС (Я), не было выявлено ни одного гетерозиготного носителя мутации 4582insT в гене *CUL7*. Согласно историческим данным, одним из мест возможного проживания якутов до переселения в Якутию было Прибайкалье (Гоголев, 2000). Поэтому мы прогенотипировали 100 образцов ДНК бурятов из Бурятии. Среди 200 прогенотипированных хромосом бурятов мутация 4582insT не была выявлена. Также прогенотипировано 100 ДНК русских из Томской области, среди которых мутации 4582insT тоже не была найдена.

*Оценка возраста мутации 4582insT в якутской популяции.* Среднее значение числа поколений, прошедших после начала распространения мутации 4582insT в якутской популяции составило 13,72 поколений со стандартным отклонением 9,93. Учитывая продолжительность одного поколения (25 лет), время, за которое это произошло, составляет  $343 \pm 248,25$  лет. Исходя из того что средний год рождения больных ЯСН - 1988, период начала распространения мутации соответствует XVII-XVIII в.в. ( $1645 \pm 248,25$  год).

***Синдром низкорослости с колбочковой дисфункцией, атрофией зрительных нервов и пельгеровской аномалией лейкоцитов (SCOP).*** Распространенность синдрома у якутов составляет 9,95 на 100 тыс. (1:10053).

Мы проанализировали генетические карты 34 больных с задержкой роста из 31 неродственной семьи. Все больные (100%) были коренной якутской национальности. Из них 22 (64,7%) - женского, 12 (35,3%) - мужского пола. Возраст больных варьировал в период первого осмотра: 28 (82,4%) пациента были в возрасте от 5 до 15 лет и 6 (17,6%) были в возрасте старше 15 лет. Рост всех родителей средний, в кровном родстве не состоят. Составлено 31 родословная, тип наследования заболевания – аутосомно-рецессивный. В 6 семьях поражено по 2 sibса.

Беременность при данной патологии протекала в основном гладко. Срок гестации варьировал от 38 до 40 недель (в среднем 39 недель). В 100% случаев роды были физиологическими. Средний рост и масса тела при рождении были нормальными ( $50,23 \pm 0,44$  см и  $2,96 \pm 0,08$  кг, соответственно). Рост больных в возрасте старше 18 лет не превышает 140 см, окружность головы - 55 см.

Родители больных обращаются к врачам после 3 летнего возраста с жалобами на частые падения ребенка и отставание в росте. Моторное развитие детей в основном протекало по возрасту, с небольшим отставанием. В физическом развитии дети отставали с первых месяцев жизни; после 3-х лет отставание в росте становилось значительным. Интеллектуальное развитие соответствовало возрасту.

Большинство пациентов имеют череп брахицефальной формы с гипоплазией лобных и теменных бугров и плоский затылок (90%). Старческое выражение лица в сочетании с мелкими чертами, прямой нос с выступающей переносицей, маленькими орбитами глаз, легким экзофтальмом, гипоплазией скуловых костей, узким лбом, длинным фильтром и тонкими губами. Эти симптомы встречаются у 88-97% пациентов (рис. 9). Короткая шея у 88%. Кожа пациентов

дряблая, тургор ткани снижен. Волосы тонкие, тусклые. Голова пропорциональна туловищу, кисти маленькие, брахидактилия (100%), клинодактилия V пальца, стопы маленькие широкие с высоким сводом, сандалевидной щелью (около 90%), брахидактилией.



Рис. 9. Больная 34 лет с синдромом SCOP. А - низкий пропорциональный рост 132 см (SDS -5,0), короткая шея, короткая и широкая грудная клетка, слегка укороченные верхние и нижние конечности, дряблая кожа. Б - микромелия кистей рук. В - микромелия стоп.

У всех больных выявлено нарушение зрения, к 5-7 годам больные начинали проходить обследование у офтальмологов с диагнозом частичная атрофия зрительных нервов. Пациенты обследованы детским и взрослым офтальмологами. У всех пациентов (100%) выявлена двухсторонняя частичная атрофия зрительных нервов. Клинические исследования до лечения выявили снижение остроты зрения в среднем до  $0,23 \pm 0,21$ . 12 пациентов имели миопическую рефракцию: один - с 3 степенью четверо - со 2 степенью, семеро - с 1 степенью; три пациента имели гиперметропию; девять – страбизм. Одному больному по результатам углубленного исследования в условиях офтальмологического отделения НИИ мозга Университета г.Ниигата (Япония) выставлен диагноз коротковолновой чувствительной (S)-колбочковой дисфункции сетчатки (рис. 10). Шестеро больных из обследованных одиннадцати в условиях МГК РБ№1-НЦМ имели по результатам дихотомической панели Фарнворта на дальтонизм различные нарушения цвета: тритановые, деутановые, протановые и все (100%) не могли прочитать псевдоизохроматический тест Ишихары. Таким образом, обследованные больные имели колбочковую дисфункцию сетчатки.

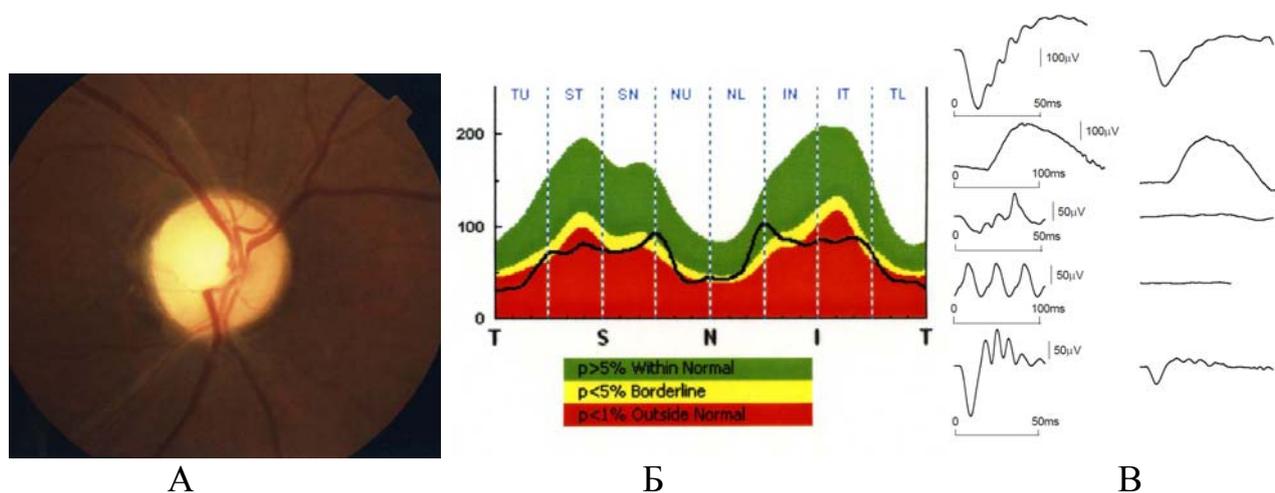


Рис. 10. Результаты офтальмологического исследования больного С., 15 лет. А - глазное дно правого глаза. Б - толщина слоя нервных волокон и ганглиозных клеток, измеренная с помощью оптической когерентной томографии (Optovue, RTVue-100, Fremont, CA) в правом глазу. Выявлено истончение нервных волокон сетчатки во всех направлениях вокруг диска зрительного нерва. В - результаты ЭРГ правого глаза больного (справа) в сравнении со здоровым человеком (слева).

При рентгенологическом исследовании костного возраста дети отстают на 2-3 года. Со стороны эндокринных органов: 15 больных (44,1%) прошли исследование соматотропного гормона, у всех наблюдался нормальный выброс СТГ после нагрузки инсулином, у 3 - переходящие нарушения со стороны щитовидной железы. Исследование кортизола в крови не выявило нарушения. У всех больных выявлен нормальный кариотип.

В общем анализе крови у больных обнаружена пельгеровская аномалия нейтрофилов (OMIM 169400) (аномалия лейкоцитов, содержащих гиполобулированные ядра: несегментированные, бисегментированные или круглые вместо четырех – пяти – ядерных) (рис. 11, А).

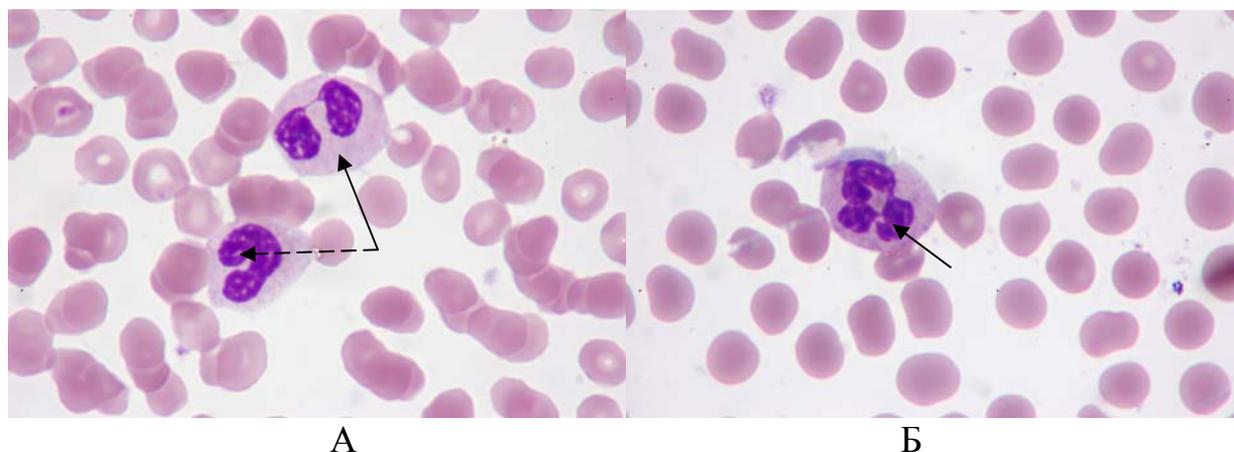


Рис. 11. Мазки крови больного с синдромом SCOP (А) и здоровой матери (Б). А – пельгеровская аномалия лейкоцитов: несегментированный (стрелка с прерывистой линией) и бисегментоядерный нейтрофилы (сплошная стрелочка). Б – норма: многоядерный нейтрофил (стрелочка).

Гетерозиготы (родители больных и сибсы) имели нормальные нейтрофилы (рис. 11, Б). Средний лобулярный индекс (СЛИ) (общее количество долей ядрышек в 100 нейтрофилах делится на 100) (Oneson et al., 1987) у больных с синдромом низкорослости в среднем был  $1,54 \pm 0,15$  и варьировал от 1,32 до 1,86, у здоровых родственников -  $3,03 \pm 0,35$  (от 2,62 до 3,22) и у здоровых -  $3,74 \pm 0,01$ . В норме СЛИ - от 2,5 до 3,1.

Новому синдрому дано название SCOP синдром (Short stature syndrome with Cone dysfunction, Optic atrophy and Pelger-Huet anomaly).

*Молекулярно-генетический анализ.* У 17 больных и их родственников из 7 семей мы провели анализ генетического сцепления с известными генами заболеваний, сходных по клинике. Применен метод гомозиготного картирования. В результате анализа все больные с данной формой нанизма не являются гомозиготами и не имеют одинаковых гаплотипов в локусах генов, вызывающих эти заболевания. Следовательно, генетического сцепления в данных семьях с локусами на хромосомах 5, 9, 17 не выявлено и эта форма нанизма не относится ни к одному из этих заболеваний.

Для полногеномного скрининга использована ДНК 31 больных и 27 их родственников из 28 неродственных якутских семей с синдромом SCOP. Полногеномный скрининг проведен с использованием панели из 811 микросателлитных маркеров, покрывающих все аутосомы со средним интервалом 4,6 сМ. Был применен метод гомозиготного генетического картирования. 25 больных из 33 были гомозиготами в области маркера *D2S149* на 2 хромосоме, тогда как частота этого маркера в нормальной якутской популяции составляет 0,06. Затем, с помощью 9 дополнительных микросателлитных маркеров, выбранных между маркерами *D2S168*, *D2S149* и *D2S215*, мы провели тонкое генетическое картирование гена для нового синдрома. В результате был определен кандидатный регион гена на 2 хромосоме в локусе маркера *D2S312*, протяженностью 2,7 млн.п.н. и ограниченный маркерами *D2S2295* и *D2S2267*, соответственно. Максимальный мультилокусный лод-балл был равен 17,73 (при частоте рекомбинаций  $\theta=0$ ) в локусе маркера *D2S312* (рис. 12, А).

Анализ рекомбинационных событий определил в качестве центральной и теломерной границ области локализации гена маркеры *D2S2295* и *D2S2267*, соответственно. Таким образом, в соответствии с цитогенетической картой 2 хромосомы, мутантный ген может быть локализован в хромосомной области 2p24.3, лежащей между маркерами *D2S2295* и *D2S2267*. Затем, с помощью 3 дополнительных динуклеотидных маркеров: *M1491*, *M1542*, *M1599* со следующей локализацией на физической карте хромосом: 114913070 п.н., 15429187 п.н., и 15991354 п.н. мы сузили кандидатный регион. Отсутствие гомозиготности наблюдалось в теломерной части в 4 семьях (817, 2913, 1839 и AA900), в области маркера *M1491*, в центральной части в 3 семьях (817, AA3362, 2913) в области маркера *M1599*. Так как пациент 817 не был гомозиготой в этом регионе, то мы не можем исключить возможности, что этот пациент является компунд-гетерозиготой. Поэтому мы исключили этого пациента из дальнейшего исследования по гомозиготному картированию.

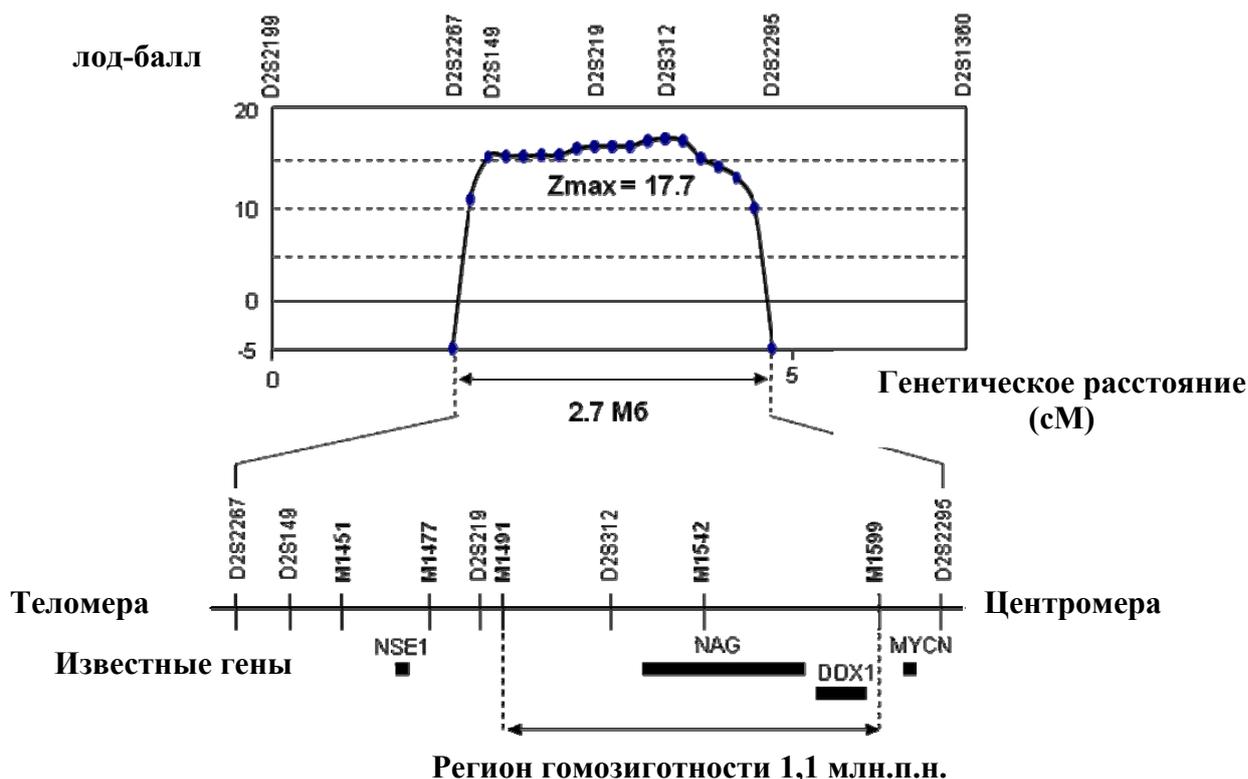


Рис. 12. Результаты мультилокусного лод-балла на 2p24.3 и физическая карта вовлеченных локусов при синдроме SCOP. А - максимальный лод-балл в локусе *D2S312*, равный 17,73; кандидатный регион гена протяженностью ~ 2,7 млн. п.н., ограниченный маркерами *D2S2267* и *D2S2295*. Б – регион гомозиготности протяженностью ~ 1,1 млн. п.н., ограниченный маркерами *M1491* и *M1599*. В этом регионе находится всего 2 гена: *NAG* и *DDX1*.

Хотя и в области маркера *M1599* в одной семье (AA3362) наблюдалось отсутствие гомозиготности, пациенты 565, AA2357, AA71, AA787, 2555, AA805 имели сходный гаплотип 4-2-1-3-1-1-2 в области маркеров *D2S149*, *D2S219*, *M1491*, *D2S312*, *M1599*, *D2S2295* и *D2S1360* в гомозиготном состоянии. Поэтому мы предположили, что произошло репликационное слипание с маркером *M1542* и кандидатный ген для нового синдрома низкорослости находится в регионе, ограниченном микросателлитными маркерами *M1491* и *M1599*, и имеет протяженность 1,1 млн. п.н. (рис. 12, Б). В данном регионе находилось 2 кандидатных гена: *NAG* и *DDX1*. А выявленный гаплотип: 8-2-1-3-4-2-1-3-3-1-1-2-7 для 13 микросателлитных маркеров: *D2S168-D2S328-D2S2199-D2S2267-D2S149-D2S219-M1491-D2S312-M1542-M1599-D2S2295-D2S1360-D2S2375*, вероятно и является гаплотипом основателя.

В критическом регионе, между маркерами *M1491* и *M1599*, находилось 2 кандидатных гена для синдрома низкорослости с колбочковой дисфункцией, атрофией зрительных нервов и пельгеровской аномалией лейкоцитов: ген белка амплифицированного при нейробластоме (*NAG*) и ген полипептида 1 DEAD бокса (*DDX1*) (рис. 12, Б).

Проведено полное прямое секвенирование 26 кодирующих экзонов гена *DDX1* и прилегающих к ним экзон-интронных участков. В гене *DDX1* мутаций не было найдено. Значит, этот ген не является геном, вызывающим синдром низкорослости у якутов.

Затем проведено полное прямое секвенирование 52 кодирующих экзонов гена *NAG* и прилегающих к ним экзон-интронных участков. При исследовании нуклеотидной последовательности фрагментов ДНК, содержащих кодирующие регионы и области сайтов сплайсинга гена *NAG*, было обнаружено девять нуклеотидных замен в семи экзонах (2, 15, 16, 21, 25, 26 и 45) и одна сплайсинговая вставка ТААТ перед 45 экзонами. Нуклеотидные замены в трех экзонах: в 15 (А→G), 21(G→A) и 26 (G→A), представлены на сайте NCBI являются нормальными полиморфизмами. Сплайсинговая вставка insТААТ перед 45 экзонами была обнаружена у 8 пациентов и у 12 исследованных якутов из популяционной выборки и, по-видимому, является нормальным полиморфизмом для якутской популяции. Шесть из девяти обнаруженных нуклеотидных замен в гене *NAG* не были представлены в международной базе данных NCBI: С130→G (приводящее к аминокислотной замене Q44E) во 2 экзоне, А1611→G (без аминокислотной замены) в 16 экзоне, Т2775→С (без аминокислотной замены), G2845→С (приводящее к аминокислотной замене V949L) в 25 экзоне, G3026→С (приводящее к аминокислотной замене С1009S) в 26 экзоне, и G5741→А (приводящее к аминокислотной замене R1914H) в 45 экзоне (рис. 13).

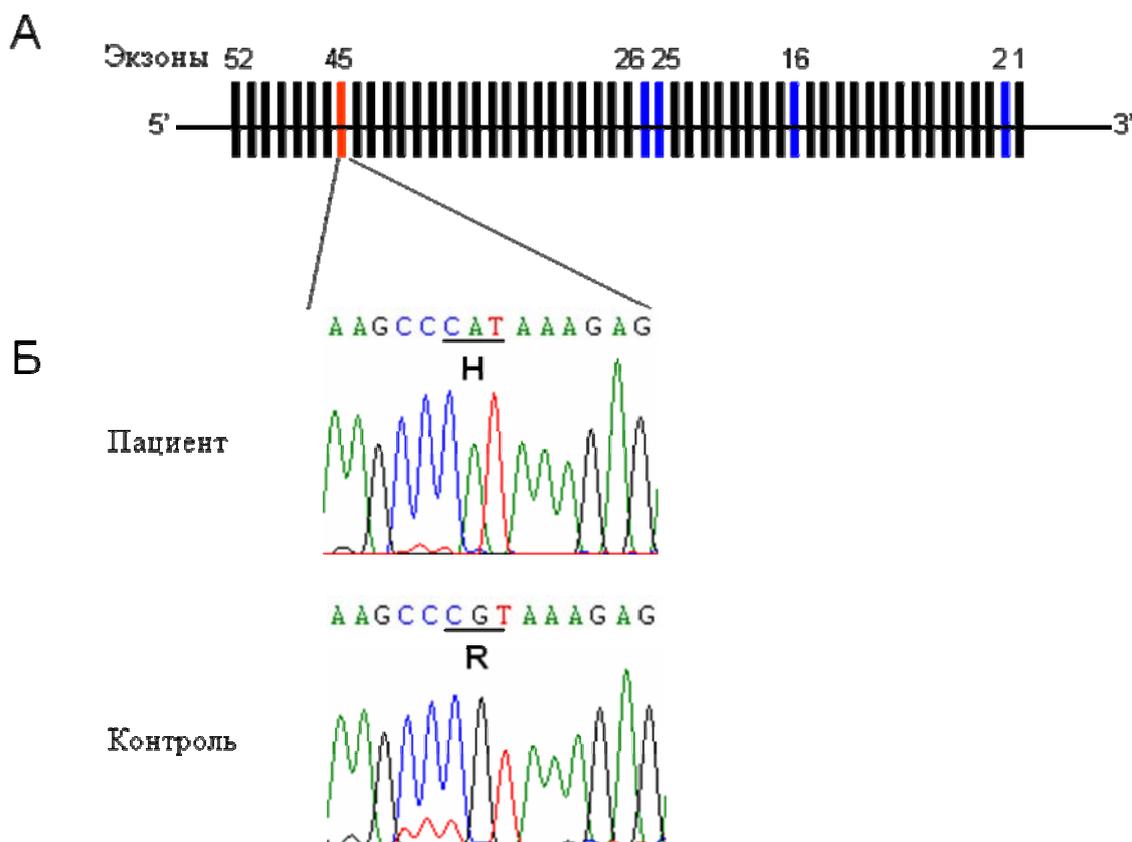


Рис. 13. А - схематическая структура гена *NAG* и расположение обнаруженных ОНП во 2,16,25,26 и 45 экзонах. Б – электрофореграмма фрагмента 45 экзона с нуклеотидной заменой G5741→А у больного (выше) и в норме (ниже).

Было установлено, что у 42 из 43 обследованных больных с синдромом SCOP все обнаруженные нуклеотидные замены в гене *NAG* находятся в гомозиготном состоянии, а у их 34 родителей и сибсов – в гетерозиготном состоянии, у 4 сибсов замены не выявлены. У пациента 817 все шесть нуклеотидных замен обнаружены в гетерозиготном состоянии и также не было найдено других нуклеотидных замен в других экзонах гена *NAG*.

Было обследовано 104 индивида якутской национальности на 5 нуклеотидных замен: C130→G во 2 экзоне, A1611→G в 16 экзоне, T2775→C, G2845→C в 25 экзоне, G3026→C в 26 экзоне и 203 якута и 100 японцев на нуклеотидную замену в 45 экзоне: G5741→A. Не было обнаружено ни одной нуклеотидной замены в гомозиготном состоянии в популяционной выборке якутов и японцев. Нуклеотидные замены во 2, 16, 25 и 26 экзонах (C130→G, A1611→G, T2775→C, G2845→C, G3026→C) встречаются в популяционной выборке якутов с частотой выше 1% (1,9 – 3,4%), что дает основание предположить, что все 5 нуклеотидных замен являются нормальными полиморфизмами; также они тесно сцеплены с мутацией в гене *NAG* и с синдромом низкорослости с колбочковой дисфункцией, атрофией зрительных нервов и пельгеровской аномалией лейкоцитов в якутской популяции.

В якутской семье 13, у здорового отца больного 484 была обнаружена нуклеотидная замена G5741→A (R1914H) в 45 экзоне гена *NAG* в гетерозиготном состоянии, а остальные 5 нуклеотидных замен в 2, 16, 25, 26 экзонах гена *NAG* были выявлены в гомозиготном состоянии. Также в 45 экзоне гена *NAG* среди 406 хромосом в якутской выборке и 200 хромосом в японской выборке не было выявлено ни одного гомозиготного носителя нуклеотидной замены G5741→A. Частота аллеля с нуклеотидной заменой G5741→A в гетерозиготном состоянии в популяционной выборке якутов составила 0,005.

По данным сравнения аминокислотных последовательностей белка *NAG* у разных видов было выявлено, что позиция 1914 является высококонсервативной позицией, в которой у всех биологических видов представлен аргинин, тогда как, глутамин в позиции 44, валин в позиции 949 и цистеин в позиции 1009 у человека не являлись консервативными в ходе эволюции и у ряда других видов в этих позициях представлены другие аминокислоты.

Таким образом, нуклеотидная замена в 45 экзоне, G5741→A (приводящая к аминокислотной замене R1914H) в гене *NAG* в гомозиготном состоянии является миссенс-мутацией и наиболее вероятной молекулярно-генетической причиной возникновения синдрома низкорослости с колбочковой дисфункцией, атрофией зрительных нервов и пельгеровской аномалией лейкоцитов в якутской популяции. *NAG* ген высоко экспрессируется в соединительной ткани, глазах, головном мозге, спинном мозге, то есть в тканях и органах, которые поражаются при синдроме низкорослости с колбочковой дисфункцией, атрофией зрительных нервов и пельгеровской аномалией лейкоцитов.

*Оценка возраста мутации.* Среднее значение числа поколений, прошедших после начала распространения мутации G5741→A в якутской популяции составило 37,76 поколений со стандартным отклонением 25,61. Учитывая про-

должительность одного поколения (25 лет), время, за которое это произошло, составляет  $944 \pm 640,25$  года. Исходя из того что средний год рождения больных с синдромом низкорослости - 1996, то период начала распространения мутации G5741→A в якутской популяции соответствует первой половине XI века (1052 год  $\pm 640,25$  лет).

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено комплексное генетико-эпидемиологическое, клинико-генеалогическое и молекулярно-генетическое изучение отдельных форм этноспецифической наследственной патологии в Республике Саха (Якутия). Результаты проведенного исследования позволяют добавить к списку этнически приуроченных или этноспецифических «якутских наследственных болезней» (спинocerebellарная атаксия 1-го типа, миотоническая дистрофия, наследственная энзимопеническая метгемоглобинемия I типа) еще пять наследственных заболеваний: АД окулофарингеальную миодистрофию, AP атаксию Фридрейха, X-сцепленную рецессивную спинально-бульбарную амиотрофию Кеннеди, AP якутский синдром низкорослости (3-M синдром) и новый, не описанный ранее AP синдром низкорослости с колбочковой дисфункцией, атрофией зрительных нервов и пельгеровской аномалией лейкоцитов (табл. 2).

Анализ регистра показал, что в Республике Саха (Якутия) имеется накопление редкой наследственной патологии, в основном, у якутов, и позволил определить распространенность пяти наследственных заболеваний в РС (Я). Два заболевания (ОФМД, АФ) зарегистрированы, в основном (92-96%), у якутского населения, а болезнь Кеннеди и обе наследственные формы низкорослости встретились только у якутов (табл. 2). Распространенность ОФМД у якутов в 10 раз выше распространенности описанной в мире. Показатели распространенности двух форм низкорослости в якутской получены впервые и позволяют отнести оба заболевания к числу частых наследственных заболеваний у якутов. При анализе территориального распространения заболевания определены очаги накопления для каждого заболевания отдельно. В улусах вилюйской и центральной Якутии зарегистрированы единичные случаи аутосомно-рецессивной атаксии Фридрейха без накопления в отдельных улусах. Интересен тот факт, что заболевание зарегистрировано у якутского этноса, являющегося представителем азиатской расы, среди которых ранее не было зарегистрировано случаев атаксии Фридрейха (Pandolfo et al., 2001). Это может быть объяснено привнесением в генофонд якутов европейской компоненты, поэтому выяснение причин возникновения и распространения атаксии Фридрейха среди якутов требует дальнейшего изучения. X-сцепленная спинально-бульбарная амиотрофия Кеннеди распространена в северных улусах (Абыйском и Верхнеколымском), где частота заболевания превышает мировые значения в сотни раз. Причиной накопления может быть положительная брачная ассортативность по национальности и низкая миграционная активность женщин якуток (Кучер и др., 2005; 2007). ОФМД получила накопление на территории улусов центральной Якутии и вилюйских улусов, особенно в Усть-Алданском улусе и городе Якутске. Оба синдрома с низкорослостью получили высокое накопление в центральной и вилюйской группе улусов, где, в основном, и проживает якутское население с

Таблица 2

Сравнительные данные по частоте наследственных болезней и специфическим мутациям у якутов и в мире

Название болезни (ОМIM **)	Тип наследования***	Ген	Мутация у якутов	Распространенность болезни на 100 тыс. чел.	
				у якутов	в мире
Спиноцеребеллярная атаксия 1-го типа (164400)	АД	<i>ATXN1</i>	экспансия CAG-повторов	36,8 [1]	1,0-2,0 [2]
Миотоническая дистрофия (160900)	АД	<i>DMPK</i>	экспансия CTG-повторов	21,3 [3]	4,0-5,0 [4]
Наследственная энзимопеническая метгемоглобинемия (250800)	АР	<i>DIA1</i>	Pro269Leu*	14,9 [5]	1,0 [6]
Окулофарингеальная мышечная дистрофия (164300)	АД	<i>PABPN1</i>	экспансия 10 GCG-повторов*	11,1 [собств. рез.]	1,0 [7]
Спинально-бульбарная амиотрофия Кеннеди (313200)	Х-сцепл. рецессив.	<i>AR</i>	экспансия CAG-повторов	2,8 [собств. рез.]	2,5 [8]
Атаксия Фридрейха (229300)	АР	<i>FRDA</i>	экспансия GAA-повторов	2,78 [собств. рез.]	2-5 [9]
3-М синдром (273750)	АР	<i>CUL7</i>	4582insT*	12,72 [собств. рез.]	неизвестно
SCOP синдром	АР	<i>NAG</i>	R1914H*	9,95 (собств. рез.)	неизвестно

Примечание. Литературные ссылки: 1 – Платонов и др., 2004; 2 – Иллариошкин и др., 2006; 3 - Сухомясова, 2005; 4 – Harper et al., 2004; 5 – Тарская и др., 2004; 6 – Галеева и др., 2006; 7 – Bouchard et al., 1997; 8 – Andrew et al., 1997; 9 – Palau, Espinos, 2006.

\* - отмечены специфические только для якутов мутации; \*\*ОМIM – номер в электронной версии каталога В. Маккьюсика «Mendelian Inheritance in Man» (MIM): [www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/); \*\*\*АД и АР – аутосомно-доминантный и аутосомно-рецессивный типы наследования.

давних времен. Но наибольшая частота распространенности для ЯСН была получена в Ленском улусе со смешанным населением, куда могли мигрировать якуты из соседнего Сунтарского улуса, где также показаны высокие значения распространенности якутского синдрома низкорослости.

Показано, что клинические проявления у якутов при ОФМД, АФ и болезни Кеннеди сходны с описанными ранее фенотипами. Проведенное впервые у якутов клинико-генеалогическое изучение ЯСН (3-М синдрома) показало, что для якутских больных характерны те же признаки, что и для описанных ранее в литературе клинических случаев 3-М синдрома в других популяциях мира (Miller et al., 1975; Spranger et al., 1976; Garcia-Cruz, Cantu, 1979; Cantu et al., 1981; Winter et al., 1984; Hennekam et al., 1987; von Goethem, Malvaux, 1987), за исключением дистресс-синдрома в периоде новорожденности почти у половины (41,9%) больных. Патогномоничные рентгенологические признаки для данного синдрома не характерны для якутских больных.

Впервые клинически описан новый наследственный синдром низкорослости у якутов. Основными клиническими симптомами нового синдрома являются: постанатальная гипоплазия, пропорционально низкий рост (SDS-4), лицевые дизморфии, микромелия стоп и кистей, вялая и дряблая кожа, колбочковая дисфункция с атрофией зрительных нервов и пельгеровская аномалия нейтрофилов. Новому синдрому дано название «синдром низкорослости с колбочковой дисфункцией, атрофией зрительных нервов и пельгеровской аномалией лейкоцитов» (SCOP).

Выявлена молекулярно-генетическая причина всех пяти наследственных заболеваний. Для трех заболеваний выявлены мажорные мутации, характерные для якутской популяции: экспансия  $(GCG)_{10}$  в гене *PABPN1* для окулофарингеальной миодистрофии, нонсенс мутация 4582insT в гене *CUL7* для ЯСН (3-М синдрома) и миссенс мутация мутации G5741→A в гене *NAG* для синдрома низкорослости с колбочковой дисфункцией, атрофией зрительных нервов и пельгеровской аномалией лейкоцитов.

Таким образом, основными факторами накопления наследственных заболеваний в якутской популяции являются: небольшая численность популяции предков, географическая изолированность, высокая рождаемость якутов (Федорова, 1999), положительная брачная ассортативность по национальности (Данилова и др., 2005; Кучер и др., 2007), и как следствие этого, дрейф генов и «гаплотип основателя». Доказательствами этому являются найденные единственные мутации в генах, приводящих к окулофарингеальной миодистрофии, 3-М синдрому и новому синдрому SCOP и выявленный «гаплотип основателя» в локусах генов *PABPN1*, *CUL7*, *NAG* по данным STR-локусов.

Подсчитан возраст двух новых мутаций: 4582insT в гене *CUL7* и мутации G5741→A в гене *NAG*, равный 13,7 и 37,7 поколениям или  $1645 \pm 248,25$  и 1052 год  $\pm 640,25$  год, соответственно. То есть возраста мутаций примерно совпадают с двумя волнами увеличения численности якутского населения. Первая волна произошла с массовым заселением предками якутов территории современной Якутии в XI-XII веках (Гоголев, 2000), со временем которой совпадает возраст мутации G5741→A в гене *NAG*. В это же примерно время (37 поколений) рас-

пространилась мутация в гене *SCA1*, вызывающая другое частое у якутов наследственное заболевание - спиноцеребеллярную атаксию 1-го типа (Осаковский и др., 2004). Возраст второй мутации 4582insT в гене *CUL7* совпадает со временем второй волны увеличения численности, со временем прихода русского населения на территорию Якутии в XVII веке и массовым расселением якутов по всей территории Якутии (Парникова, 1971).

По результатам популяционно-генетических исследований получены данные о частоте гетерозиготного носительства новых мутаций: 4582insT в гене *CUL7* и мутации G5741→A в гене *NAG* в популяциях якутов и народов Сибири и Якутии. Частота гетерозиготного носительства мутации 4582insT в гене *CUL7* в якутской популяции составляет 3%, что говорит о том, что около 13 тыс. якутов (каждый 33-ий якут) являются гетерозиготными носителями мутации 4582insT в гене *CUL7*. Частота гетерозиготного носительства мутации G5741→A в гене *NAG* составляет 1%, что говорит о том что, около 4,5 тыс. якутов (каждый 100 якут) являются гетерозиготными носителем мутации G5741→A в гене *NAG*. В популяциях эвенков, эвенков, юкагиров, русских Томской области и бурятов из Бурятии мутации 4582insT в гене *CUL7* не обнаружено, в популяции японцев мутации G5741→A в гене *NAG* не выявлено.

На основании полученных результатов разработаны и внедрены в практику медико-генетического консультирования РС (Я) новые методы молекулярной диагностики пяти наследственных заболеваний. Разработан, обоснован и внедрен в работу консультации алгоритм диагностики пяти наследственных заболеваний: ОФМД, АФ, болезни Кеннеди, ЯСН и нового синдрома SCOP.

### ВЫВОДЫ

1. В якутской популяции имеется накопление редкой аутосомно-рецессивной, X-сцепленной рецессивной и аутосомно-доминантной наследственной патологии. В ходе исследования выявлено пять этноспецифических заболеваний в якутской популяции.
2. Распространенность аутосомно-доминантной окулофарингеальной миодистрофии в РС (Я) среди якутов составляет 11,1 на 100 тыс. населения с преимущественным накоплением в центральной и вилуйской группах улусов Якутии. Единственная молекулярно-генетическая причина всех случаев ОФМД в якутской популяции – мутация (GCG)<sub>10</sub> в 1 экзоне гена *PABPN1*. Выявленный единственный гаплотип является гаплотипом основателя.
3. Распространенность X-сцепленной спинально-бульбарной амиотрофии Кеннеди среди якутского населения РС (Я) составляет 2,8 на 100 тыс. мужчин с преимущественным накоплением в северной группе улусов, где распространенность выше мировых значений в сотни раз (106,6 и 408,7 на 100 тыс. нас.). Молекулярно - генетической причиной болезни Кеннеди у якутов является экспансия (CAG)<sub>n</sub> в гене *AR*.
4. Распространенность аутосомно-рецессивной атаксии Фридрейха среди якутского населения РС (Я) составляет 2,8 на 100 тыс. населения. Молекулярно-генетической причиной АФ у якутов является экспансия (GAA)<sub>n</sub>– повторов в 1 интроне гена *FRDA*. Атаксия Фридрейха зарегистрирована в популяции якутов, относящихся к азиатской расе, где ранее не было описано

случаев болезни.

5. Одной из причин наследственной аутосомно-рецессивной низкорослости в якутской популяции является 3-М синдром. Распространенность среди всего якутского населения – 12,72 на 100 тыс. населения, среди детского населения – 36,7 на 100 тыс. детского населения. Клинические признаки якутских больных с 3-М синдром сходны с клиникой других больных в мире, за исключением дистресс-синдрома новорожденных и низкой частоты рентгенологической патологии. Мутация 4582insT в гене *CUL7* является единственной причиной 3-М синдрома в якутской популяции. Частота гетерозиготного носительства мутации 4582insT в якутской популяции составляет 3%. Выявленный одинаковый гаплотип является гаплотипом основателя. Возраст мутации 4582insT составляет 13,7 поколений или 342,5 лет. В популяциях эвенков, юкагиров, эвенков, бурятов Бурятии, русских Томской области гетерозиготных носителей мутации 4582insT в гене *CUL7* не встречается.
6. Описан новый синдром наследственной аутосомно-рецессивной низкорослости в якутской популяции с распространенностью 9,95 на 100 тыс. якутов, среди детского населения - 30,8. Основными клиническими проявлениями болезни являются: пренатальная гипоплазия, низкий пропорциональный рост, лицевые дизморфии, микромелия стоп и кистей, вялая и дряблая кожа, колбочковая дисфункция сетчатки с атрофией зрительных нервов и пельгеровская аномалия нейтрофилов. Новому синдрому дано название «синдром низкорослости с колбочковой дисфункцией, атрофией зрительных нервов и пельгеровской аномалией лейкоцитов» (SCOP). Мутация G5741→A (R1914H) в гене *NAG* является единственной причиной синдрома низкорослости с колбочковой дисфункцией, атрофией зрительных нервов и пельгеровской аномалией, с аутосомно-рецессивным типом наследования в якутской популяции. Популяционная частота гетерозиготного носительства мутации G5741→A в якутской популяции составляет 1%. Выявлен «гаплотип основателя». Возраст мутации R1914H в гене *NAG* составляет 37,8 поколений или 945 лет.
7. Популяционным механизмом накопления наследственных заболеваний: 3-М синдрома, окулофарингеальной миодистрофии и аутосомно-рецессивного синдрома низкорослости с колбочковой дисфункцией, атрофией зрительных нервов и пельгеровской аномалией лейкоцитов в якутской популяции является эффект основателя. Возраст мутаций 4582insT и G5741→A совпадает с двумя волнами экспансии численности якутского населения в XI и XVII вв.
8. Создан Республиканский генетический регистр наследственной и врожденной патологии, позволяющий решать задачи накопления эпидемиологической информации о нозологической структуре, диспансеризации семей с наследственными заболеваниями, пре- и постнатальной диагностики и профилактики НП, а также проводить генетический мониторинг населения.
9. Разработан, обоснован и внедрен в работу медико-генетической консультации алгоритм диагностики пяти наследственных заболеваний: окулофарингеальной миодистрофии, атаксии Фридрейха, болезни Кеннеди, 3-М син-

дрома и нового синдрома низкорослости с колбочковой дисфункцией, атрофией зрительных нервов и пельгеровской аномалией лейкоцитов с применением молекулярно-генетических методов диагностики мажорных мутаций в исследованных генах.

### ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Полученные в ходе исследования данные о спектре, распространенности наследственной патологии в Республике Саха (Якутия), о частых якутских наследственных болезнях довести до сведения сотрудников медико-генетической консультации РБ№1-НЦМ РС (Я), использовать при обучении студентов старших курсов медицинского института Якутского государственного университета им. М.К. Аммосова, последипломной подготовки врачей на кафедрах педиатрии, терапии, семейной медицины, неврологии.
2. Врачам-педиатрам, терапевтам, эндокринологам, невропатологам, офтальмологам, ортопедам рекомендуется направлять пациентов с клиническими проявлениями окулофарингеальной миодистрофии, спинально-бульбарной амиотрофии Кеннеди, атаксии Фридрейха, ЯСН и SCOP синдрома в медико-генетическую консультацию РБ№1-НЦМ с учетом предложенных алгоритмов.
3. Учитывая высокую распространенность в Республике Саха (Якутия) двух форм низкорослости ЯСН и SCOP синдрома, связанных с мутациями 4582insT гена *CUL7* и G5741→A гена *NAG*, и высокую частоту гетерозиготного носительства данных мутаций среди якутов, всем пациентам с низким ростом и атрофией зрительных нервов в Республике Саха (Якутия) рекомендуется ДНК-диагностика для уточнения диагноза и прогноза потомства.
4. На основе разработанной в период выполнения настоящей работы методики ДНК-диагностики «якутских наследственных болезней»: окулофарингеальной миодистрофии, спинально-бульбарной амиотрофии Кеннеди, атаксии Фридрейха, ЯСН и SCOP синдрома среди брачующихся пар рекомендуется проведение скрининга на гетерозиготное носительство мутаций 4582insT гена *CUL7* и G5741→A гена *NAG* с целью последующей пренатальной и преимплантационной ДНК-диагностики.
5. В целях совершенствования медико-генетической помощи больным с наследственной патологией в Республике Саха (Якутия) разработать и внести на утверждение Министерством здравоохранения РС (Я) «Республиканскую целевую программу профилактики врожденной и наследственной патологии» на 2009-2013 гг.
6. Основные дифференциально-диагностические критерии окулофарингеальной миодистрофии, спинально-бульбарной амиотрофии Кеннеди, атаксии Фридрейха, ЯСН и SCOP синдрома в виде методических рекомендаций и информационных писем направить во все лечебно-профилактические учреждения Республики Саха (Якутия).
7. Вести широкую просветительскую работу среди педиатров, терапевтов, невропатологов, ортопедов, офтальмологов, психиатров, эндокринологов с целью активного выявления и формирования ориентированного потока для оказания медико-генетической помощи.

**Список работ, опубликованных по теме диссертации:**

1. *Максимова Н.Р.*, Ноговицына А.Н., Сухомясова А.Л., Аргунов В.А. Респираторный дистресс-синдром у новорожденных - новый клинический признак у якутских больных с 3 М-синдромом?// Педиатрия им. Г. Н. Сперанского. 2009. Т. 87. №3. С. 52-56.
2. *Максимова Н.Р.*, Сухомясова А.Л., Ноговицына А.Н., Пузырев В.П. Этноспецифическая наследственная патология в Республике Саха (Якутия)// Якутский медицинский журнал. 2009. №2. С. 15-19.
3. Николаева И.А., Коротов М.Н., Гуринова Е.Е., Степанова С.К., *Максимова Н.Р.* и др. Наследственные болезни нервной системы в Республике Саха (Якутия) // Якутский медицинский журнал. 2009. №2. С. 52-54.
4. Куртанов Х.А., *Максимова Н.Р.*, Марусин А.В., Степанов В.А. Полиморфизм локуса ОФМД в популяциях Якутии // Якутский медицинский журнал. 2009. №2. С. 54-58.
5. *Максимова Н.Р.*, Сухомясова А.Л., Томский М.И. ДНК-диагностика моногенных заболеваний в Республике Саха (Якутия)// Илин. 2009. №3. С. 54-56.
6. *Максимова Н.Р.*, Скрябин Н.А., Павлова Н.Л. и др. 3-М синдром у плода: ультразвуковые, молекулярно-генетические и гистологические особенности / Тез. научно-практ. конференции «Итоги и перспективы развития службы охраны материнства и детства в Республике Саха (Якутия). Якутск: Изд-во «ИНИТ», 2009. С.80-86.
7. Пузырев В.П., *Максимова Н.Р.* Наследственные заболевания у якутов // Генетика. 2008. Т.44. №10. С. 1317-1325.
8. *Максимова Н.Р.*, Николаева И.А., Коротов М.Н. и др. Клинико-генеалогическая и молекулярно-генетическая характеристика окулофарингеальной миодистрофии в Республике Саха (Якутия) // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2008. Т.108. №6. С. 52-60.
9. *Максимова Н.Р.*, Сухомясова А.Л., Гуринова Е.Е. и др. Генетико-эпидемиологические и социально-экономические аспекты наследственной этноспецифической патологии в Якутии // Медицинская генетика. 2008. Т. 7. №10. С. 35-43.
10. Барашков Н.А., Джемилева Л.У., Федорова С.А., *Максимова Н.Р.* и др. Мутации гена коннексина 26 (*GJB2*) у больных наследственной несиндромальной сенсоневральной тугоухостью в Республике Саха (Якутия) // Вестник оториноларингологии. 2008. № 5. С. 23-28.
11. Ноговицына А.Н., *Максимова Н.Р.*, Сухомясова А.Л. и др. Мониторинг новорожденных и детей до 1 года жизни с врожденными пороками сердца в 2003-2007 г. в Республике Саха (Якутия) // Якутский медицинский журнал. 2008. №3. С. 21-25.
12. Куртанов Х.А., *Максимова Н.Р.*, Стапанова С.К. и др. Внедрение ДНК-диагностики окулофарингеальной миодистрофии в практику медико-генетического консультирования Республики Саха (Якутия) // Якутский медицинский журнал. 2008. №4. С. 43-46.

13. *Максимова Н.Р.*, Скрябин Н.А., Павлова Н.Л. и др. 3-М синдром у плода: ультразвуковые, молекулярно-генетические и гистологические особенности // Медицинская генетика. 2008. №2. С. 42-47.
14. *Maksimova N.*, Hara K., Miyashita A. et al. Novel CUL7 mutation in 49 Yakut patients with short stature syndrome / Тез. XIII международной конференции «Human Genome Meeting». Хайдерабад, Индия, 2008. P.109.
15. *Koneva L.A.*, Babushkina N.P., Kuharskiy M.S., *Maksimova N.R.* Prevalence of CAT-interruption in (CAG)n-repeat region in the gene for SCA1 in Siberian populations // Тез. международной конференции «European Human Genetics conference». Barcelona, Spain, 2008. P. 391.
16. Ноговицына А.Н., *Максимова Н.Р.*, Сухомясова А.Л. Современные подходы к организации профилактики инвалидности от врожденной патологии / Тез. межрегиональной научно-практической конференции «Современные аспекты эпидемиологии, диагностики и лечения неврологических заболеваний на Севере». Якутск: ИП «Петрова Н.Н.», 2008. С. 71-74.
17. Коротов М.Н., *Максимова Н.Р.*, Николаева И.А. и др. Болезнь Кеннеди в Якутии/ Тез. межрегиональной научно-практической конференции «Современные аспекты эпидемиологии, диагностики и лечения неврологических заболеваний на Севере». Якутск: ИП «Петрова Н.Н.», 2008. С. 64-65.
18. *Максимова Н.Р.*, Пузырев В.П. Этноспецифические наследственные болезни у якутов / Тез. межрегиональной научно-практической конференции «Здоровье детей на Севере». Якутск: ЯНЦ СО РАМН, 2008. С. 91-94.
19. Николаева И.А., Гуринова Е.Е., Степанова С.К., Коротов М.Н., *Максимова Н.Р.* и др. Наследственные заболевания нервной системы у детей в Якутии / Тез. межрегиональной научно-практической конференции «Здоровье детей на Севере». Якутск: ЯНЦ СО РАМН, 2008. С. 102-104.
20. *Maksimova N.*, Hara K., Miyashita A. et al. Clinical, molecular and histopathological feature of short stature syndrome with novel CUL7 mutation in Yakuts: new population isolate in Asia // J. Med. Genetics. 2007. V.44. №12. P 772-778.
21. Dzhemileva L.U., Posukh O.L., Barashkov N.A., Tazetdinov A.M., Fedorova S.A., *Maximova N.R.* et al. Mutational analysis of the mitochondrial 12SrRNA and tRNASer (UCN) genes in patients with aminoglycoside-induced and nonsyndromic hearing loss from Volga-Ural region and Siberia (Russia) // Тез. международной конференции «European Human Genetics conference». Nice, France, 2007. P. 213
22. Sukhomyasova A.L., *Maximova N.R.*, Nogovitsina A.N. et al. Myotonic Dystrophy in Yakutsk (Russian Federation)// Тез. международной конференции «European Human Genetics conference». Nice, France, 2007. P. 336.
23. *Maximova N.R.*, Hara K., Nikolaeva I. A. et al. Novel mutation in CUL7 in Yakut patients with 3-M syndrome / Тез. международной европейской конференции European Human Genetics conference. Nice, France, 2007. P. 232.
24. *Максимова Н.Р.*, Ноговицына А.Н., Николаева И.А. и др. Идентификация новой мутации в гене CUL7 при 3-М синдроме в якутской популяции // Медицинская генетика. 2007. №11. С.34-38.

25. *Максимова Н.Р.*, Ноговицына А.Н., Николаева И.А. и др. Клиническая характеристика 3-М синдрома у 43 якутских пациентов и подходы к ДНК-диагностике в Республике Саха (Якутия)// Медицинская генетика. 2007. №12. С.35-38.
26. Барашков Н.А., Джемилева Л.У., Федорова С.А., *Максимова Н.Р.* и др. Вклад мутаций 35delG, 167delT и 235delC гена коннексина 26 (GJB2) в возникновении наследственной несиндромальной сенсоневральной тугоухости в Республике Саха (Якутия) // Медицинская генетика. 2007. №9. С. 26-30.
27. *Максимова Н.Р.*, Ноговицына А.Н., Сухомясова А.Л. и др. Клинические и молекулярно-генетические аспекты наследственного нанизма у якутов с мутацией в гене *CUL7* // Якутский медицинский журнал. 2007. №2. С.6-9.
28. Ноговицына А.Н., Бурцева Е.И., *Максимова Н.Р.* и др. Социально-экономический ущерб от наследственных болезней в РС (Я) //Якутский медицинский журнал. 2007. №3. С.64-67.
29. Исаков Л.О., Ушницкий И.Д., *Максимова Н.Р.* и др. Медико-генетические и эпидемиологические аспекты врожденных расщелин верхней губы и/или неба у детей Якутии // Прил. к журналу «Сибирский медицинский журнал». Иркутск, 2007. №2. С. 90-93
30. *Максимова Н.Р.*, Ноговицына А.Н., Пузырев В.П. Редкий 3-М синдром у якутов: клиническая и молекулярно-генетическая характеристика / Сб. VIII научно-практической конференции «Генетика человека и патология». Томск: Изд-во «Печатная мануфактура», 2007. С. 162-167.
31. *Максимова Н.Р.*, Николаева И.А., Коротов М.Н. и др. Клинико-генеалогическое и молекулярно-генетическое исследование окулофарингеальной миодистрофии в Республике Саха (Якутия) / Сб.VIII научно-практической конференции «Генетика человека и патология». Томск: Изд-во «Печатная мануфактура», 2007. С. 160-161.
32. Ноговицына А.Н., *Максимова Н.Р.*, Сухомясова А.Л. Оценка социально-экономического ущерба от наследственных болезней в Республике Саха (Якутия) / Сб. VIII научно-практической конференции «Генетика человека и патология». Томск: Изд-во «Печатная мануфактура», 2007. С. 169-173.
33. *Максимова Н.Р.*, К.Хара, Николаева И.А. и др. Молекулярно-генетическая причина 3-М синдрома в якутской популяции / Тез. межрегиональной научно-практической конференции «Молекулярно-клеточные аспекты патологии человека на Севере». Якутск: ЯНЦ СО РАМН, 2007. С. 42-43.
34. *Максимова Н.Р.*, Николаева И.А., Коротов М.Н. и др. Окулофарингеальная миодистрофия в Республике Саха (Якутия): клинические и молекулярно-генетические аспекты / Тез. II межрегиональной научно-практической конференции «Экология и здоровье человека на Севере». Якутск: ЯНЦ СО РАМН, 2007. С. 34.
35. *Максимова Н.Р.*, Ноговицына А.Н., Сухомясова А.Л. и др. Редкий синдром с низкорослостью с мутацией в гене *CUL7* у якутов: клиническая и молекулярно-генетическая характеристика / Тез. II межрегиональной научно-практической конференции «Экология и здоровье человека на Севере». Якутск: ЯНЦ СО РАМН, 2007. С.37.

36. *Максимова Н.Р.*, Ноговицына А.Н., Сухомясова А.Л. и др. Молекулярно-генетические и гистологические особенности в плаценте и легких плода с мутацией в гене *CUL7* с 3-М синдромом / Тез. II межрегиональной научно-практической конференции «Экология и здоровье человека на Севере». Якутск: ЯНЦ СО РАМН, 2007. С. 38.
37. *Максимова Н.Р.*, К.Хара, Николаева И.А. и др. Молекулярно-генетическая причина 3-М синдрома в якутской популяции / Тез. межрегиональной научно-практической конференции «Молекулярно-клеточные аспекты патологии человека на Севере». Якутск: ЯНЦ СО РАМН, 2007. С. 42-43.
38. Степанова С.К., Кононова С.К., Федорова С.А., *Максимова Н.Р.* и др. Молекулярно-генетические методы диагностики наследственных моногенных болезней в РБ№1-НЦМ РС (Я) / Тез. межрегиональной научно-практической конференции «Молекулярно-клеточные аспекты патологии человека на Севере». Якутск: ЯНЦ СО РАМН, 2007. С. 49-51.
39. Ноговицына А.Н., Сухомясова А.Л., *Максимова Н.Р.* и др. Компьютерная система регистрации семей с врожденной и наследственной патологией / Тез. межрегиональной научно-практической конференции «Национальный проект-повышение доступности высокотехнологичной медицинской помощи населению РС (Я)». Якутск, 2007. С. 165-166.
40. Степанова С.К., Захарова В.А., Сидорова О.Г., *Максимова Н.Р.* и др. ДНК-тестирование в пренатальной диагностике моногенных болезней в медико-генетической консультации / Тез. межрегиональной научно-практической конференции «Национальный проект - повышение доступности высокотехнологичной медицинской помощи населению РС (Я)». Якутск, 2007. С. 218.
41. Степанова С.К., Кононова С.К., Федорова С.А., Ноговицына А.Н., *Максимова Н.Р.* и др. Внедрение методов молекулярно-генетической диагностики наследственных моногенных болезней в медико-генетической консультации / Тез. межрегиональной научно-практической конференции «Национальный проект - повышение доступности высокотехнологичной медицинской помощи населению РС (Я)». Якутск, 2007. С. 219.
42. Сухомясова А.Л., Ноговицына А.Н., *Максимова Н.Р.* О состоянии и перспективах развития медико-генетической службы в РС (Я) / Тез. межрегиональной научно-практической конференции «Национальный проект - повышение доступности высокотехнологичной медицинской помощи населению РС (Я)». Якутск, 2007. С. 222-223.
43. Барашков Н.А., Кононова С.К., *Максимова Н.Р.* и др. Идентификация мутации 35delG в гене *GJB2* у больных нейросенсорной тугоухостью в РС (Я) // Наука и образование. 2006. №2(42). С.129-133.
44. *Максимова Н.Р.*, Коротов М.Н., Николаева И.А. и др. Окулофарингеальная миодистрофия в Республике Саха (Я) / Тез. III международной научно-практической конференции «Проблемы виллюйского энцефаломиелита и других нейродегенеративных заболеваний в Якутии». Якутск: «Копиртехсервис», 2006. С. 22-23.
45. *Максимова Н.Р.*, Коротов М.Н., Степанова С.К. и др. Внедрение молекулярной диагностики X-сцепленной бульбо-спинальной амиотрофии Кеннеди в

практику медико-генетического консультирования в Республике Саха (Я) / Тез. III международной научно-практической конференции «Проблемы виллюйского энцефаломиелиита и других нейродегенеративных заболеваний в Якутии». Якутск: «Копиртехсервис», 2006. С. 24.

46. Максимова Н.Р., Степанова С.К., Коротов М.Н. и др. Внедрение ДНК диагностики атаксии Фридрейха в практику медико-генетического консультирования в Республике Саха (Якутия) / Тез. III международной научно-практической конференции «Проблемы виллюйского энцефаломиелиита и других нейродегенеративных заболеваний в Якутии». Якутск: «Копиртехсервис», 2006. С. 25.
47. Кычкина О.И., Кононова С.К., Федорова С.А., Максимова Н.Р. и др. О деятельности «Банка ДНК наследственных патологий и популяций народов Республики Саха (Якутия)» / Тез. III международной научно-практической конференции «Проблемы виллюйского энцефаломиелиита и других нейродегенеративных заболеваний в Якутии». Якутск: «Копиртехсервис», 2006. С. 25-26.
48. Барашков Н.А., Терютин Ф.М., Сухомясова А.Л., Максимова Н.Р. и др. Анализ локуса CX26AU у больных нейросенсорной тугоухостью и глухотой из республики Саха (Якутия) // Якутский медицинский журнал. Якутск, 2006. № 2. С. 4.
49. Максимова Н.Р., Хара К., Ноговицына А.Н. и др. Идентификация новой мутации в гене *CUL7* при Три-М синдроме в якутской популяции /Тез.13 международного конгресса по приполярной медицине // Бюллетень СО РАМН. Прил. Новосибирск, 2006. С.124.
50. Кучер А.Н., Данилова А.Л., Конева Л.А., Максимова Н.Р. и др. Генетико-демографическое изучение народонаселения РС (Я) // Якутский медицинский журнал. 2005. № 2(10). С. 4-12.
51. Данилова А.Л., Кучер А.Н., Максимова Н.Р. и др. Генетико-демографический анализ сельских популяций РС (Я) // Наука и образование. №2 (38). 2005. С. 98-103.
52. Барашков Н.А., Федорова С.А., Кононова С.К., Сухомясова А.Л., Максимова Н.Р. и др. Внедрение идентификации мутации 35del G гене *GJB2* при наследственных формах тугоухости/глухоты в практику медико-генетического консультирования РС (Я) // Якутский медицинский журнал. 2005. №3 (11). С. 70-76.
53. Sukhomyasova A.L., Maximova N.R., Korotov M.N. et al. Myotonic dystrophy in the Republic of Sakha (Yakutia) (Russia) // Тез. международной конференции «European Human Genetics conference». Prague, Czech Republic, 2005. P. 119.
54. Ноговицына А.Н., Максимова Н.Р., Сухомясова А.Л. и др. Регистр наследственной и врожденной патологии в Республике Саха (Якутия) / Тез. V съезда мед. генетиков. Ч.II. // Медицинская генетика. 2005. №5. С. 241.
55. Коротов М.Н., Николаева И.А., Максимова Н.Р. и др. Наследственно-дегенеративные заболевания нервной системы в Якутии / Тез. научно-практической конференции с международным участием «Генетические ас-

- пекты патологии человека. Проблемы сохранения генофонда коренных народов Севера // Якутский медицинский журнал. Прил. №1. 2005. С. 30-31.
56. *Maximova N.R., Sukhomyasova A.L., Nogovicina A.N. et al.* Friedreich ataxia in Yakut families / Тез. научно-практической конференции с международным участием «Генетические аспекты патологии человека. Проблемы сохранения генофонда коренных народов Севера» // Якутский медицинский журнал. Прил. №1. 2005. С. 94-95.
57. *Maximova N.R., Sukhomyasova A.L., Nogovicina A.N. et al.* Hereditary nanisms with autosomal recessive inheritance in Yakuts / Тез. научно-практической конференции с международным участием «Генетические аспекты патологии человека. Проблемы сохранения генофонда коренных народов Севера» // Якутский медицинский журнал. Прил. №1. 2005. С. 92-93.
58. Коротов М.Н., Сухомьясова А.Л., *Максимова Н.Р.* и др. Миотония Томсена в Якутии и дифференциальная диагностика с миотонической дистрофией // Якутский медицинский журнал. 2004. №2. С.16-19.
59. Ноговицына А.Н., *Максимова Н.Р.*, Сухомьясова А.Л. и др. Республиканский генетический регистр наследственной и врожденной патологии в Республике Саха(Якутия)// Якутский медицинский журнал. 2004. №4. С.4-7.
60. *Maximova N.R., Sukhomyasova A.L., Nogovitsina A.N.* Two forms of hereditary nanisms with autosomal recessive inheritance as one of the reasons of height retardation among children in Yakut population (Russia) / Тез. международной конференции «Eleventh International Symposium». Niigata, Japan, 2004. P. 139.
61. *Maximova N.R., Sukhomyasova A.L., Nogovitsina A.N.* Hereditary nanisms with autosomal recessive inheritance in Yakut population (Russia) / Тез. международной конференции «European Human Genetics conference». Munich, Germany. 2004. P. 9
62. *Maximova N.R., Nogovocina A.N.* One of the often nanism in Yakut population // Тез. международной конференции «Genetics of Complex Diseases and isolated populations». Tortoli, Sardinia, Italy. 2003. P.14.
63. Сухомьясова А.Л., Федорова С.А., Коротов М.Н., *Максимова Н.Р.*, и др. Миотоническая дистрофия в Республике Саха (Якутия): Популяционные особенности и подходы к ДНК-тестированию // Якутский медицинский журнал. 2003. №2. С. 12-17.
64. Ноговицына А.Н., *Максимова Н.Р.*, Федорова С.А. Состояние и перспективы развития медицинской генетики в Республике Саха (Якутия) // Якутский медицинский журнал. 2003. №1. С. 33-37.
65. Ноговицына А.Н., *Максимова Н.Р.* Состояние и проблемы медико-генетического консультирования в Республике Саха (Якутия) / Тез. Всероссийской научно-практической конференции "Современные достижения клинической генетики"// Медицинская генетика. 2003. №10. С. 432.
66. Кононова С.К., Сухомьясова А.Л., Ноговицына А.Н., *Максимова Н.Р.* и др. Биоэтические проблемы при использовании современных генетических методов диагностики наследственных болезней в практике медико-

генетического консультирования с анализом анкетирования коренного населения Якутии // Медицинская генетика. 2003. №5. С. 218-222.

67. *Максимова Н.Р.*, Ноговицына А.Н., Федорова С.А. и др. Нейрофиброматоз в РС (Я) / Тез. научно-практической конференции «Вопросы формирования здоровья и патологии человека на Севере: факты, проблемы и перспективы». Якутск: ЯФ изд-ва СО РАМН, 2002. С. 260-262.
68. Ноговицына А.Н., *Максимова Н.Р.* Республиканский регистр наследственной патологии / Тез. научно-практической конференции «Актуальные вопросы педиатрии». Якутск: Изд-во ЯГУ, 2002. С. 109-111.
69. Ноговицына А.Н., *Максимова Н.Р.* Республиканский регистр наследственной и врожденной патологии / Тез. IV медицинской ассамблеи союза городов Заполярья и Крайнего Севера. Якутск: Изд-во «РТС-Импульс», 2002. С. 46-49.
70. *Максимова Н.Р.*, Ноговицына А.Н., Сухомясова А.Л. и др. Медико-генетическое консультирование больных с наследственными заболеваниями нервной системы / Тез. Республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы клинической неврологии». Якутск: Изд-во ЯГУ, 2001. С. 20-21.
71. Ноговицына А.Н., *Максимова Н.Р.*, Ханды М.В. Наследственная патология семей, обратившихся в МГК Национального центра медицины Республики Саха (Якутия) / Тез. второго (четвертого) Российского съезда медицинских генетиков. Курск, 17-19 мая 2000. С.161-162.
72. Ноговицына А.Н., *Максимова Н.Р.*, Ханды М.В. Моногенные наследственные заболевания семей, обратившихся в медико-генетическую консультацию Национального Центра Медицины Республики Саха (Якутия) с 1990 по 1998 год // Дальневосточный медицинский журнал. 1999. №1. С. 26-30.
73. Ноговицына А.Н., *Максимова Н.Р.* Одна из наиболее часто встречающихся форм нанизма в популяции саха / Тез. всероссийской конференции «Актуальные проблемы диагностики, лечения и профилактики наследственных заболеваний у детей». Москва, 1998. С. 95-96.
74. *Максимова Н.Р.*, Ноговицына А.Н., Сухомясова А.Л. (Россия). Пат. 2315310 Российская Федерация, МПК G01N 33/50 C12Q 1/68. Способ диагностики 3-М синдрома в якутской популяции / №2006118727/15 // Бюллетень ФИПС. Москва, заявл. 30.05.2006; опубл. 20.01.2008. №2.

#### Список использованных сокращений

АФ	атаксия Фридрейха
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
МГК	медико-генетическая консультация
МД	миотоническая дистрофия
МИ ЯГУ	медицинский институт Якутского Государственного университета
НЭМ	наследственная энзимопеническая метгемоглобемия
ОНП	однонуклеотидный полиморфизм
ОФМД	окулофарингеальная миодистрофия

ПЦР	полимеразная цепная реакция
РБ№1 - НЦМ	Республиканская больница №1 - Национальный центр медицины
РС (Я)	Республика Саха (Якутия)
ЯСН	якутский синдром низкорослости
3-М	аббревиатура фамилий 3 авторов (Марвелл, Малвакс и МакКьюсик), впервые описавших синдром, получивший их имя
ЯНЦ КМП СО РАМН	Якутский научный центр комплексных медицинских проблем Сибирского отделения Российской академии медицинских наук
<i>AR</i>	ген андрогенного рецептора
<i>CUL7</i>	ген Куллин 7
<i>FRDA</i>	ген белка фратаксина
<i>NAG</i>	ген белка, амплифицированного при нейробластоме
OMIM	Online Mendelian Inheritance in Man - номер наследствен- ной болезни или признака в международном каталоге МакКьюсика
<i>PAPBN1, PABP2</i>	ген поли-(А)-связывающего белка 2
STR	короткие tandemные повторы
SCOP	синдром низкорослости с колбочкой дисфункцией, ат- рофией зрительных нервов и пельгеровской аномалией лейкоцитов (Short stature syndrome with Cone dysfunction, Optic atrophy and Pelger-Huet anomaly)