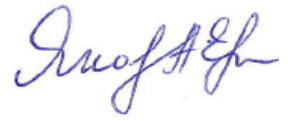


На правах рукописи



ЯКОВЛЕВА АЛЕКСАНДРА ЕРЕМЕЕВНА

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МНОЖЕСТВЕННОЙ
ЭКЗОСТОЗНОЙ ХОНДРОДИСПЛАЗИИ В ЯКУТИИ**

1.5.7. Генетика

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Томск – 2024

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова», г. Якутск.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Максимова Надежда Романовна

Официальные оппоненты:

Пчелина Софья Николаевна, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Научно-исследовательский центр, отдел молекулярно-генетических и нанобиологических технологий, руководитель (г. Санкт-Петербург).

Хусаинова Рита Игоревна, доктор биологических наук, доцент Государственный научный центр Российской Федерации Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, лаборатория геномной медицины, главный научный сотрудник (г. Москва).

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова» (г. Москва).

Защита состоится «___» _____ 202__ года в _____ часов на заседании диссертационного совета 24.1.215.03 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» по адресу г. Томск, Московский тр., 3, Научно-исследовательский институт медицинской генетики Томского НИМЦ.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», адрес сайта <http://tnimc.ru/>

Автореферат разослан «___» _____ 202__ года

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук

 Назаренко Мария Сергеевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Наследственная патология и врожденные пороки развития вносят существенный вклад в заболеваемость, инвалидизацию и смертность как детского, так и взрослого населения, являясь не только медицинской, но и социальной проблемой [Амелина С.С., 2006]. Генетическое разнообразие индивида в основном определяется его принадлежностью к этнической группе и географическому региону [Степанов В.А., 2010].

К наследственным заболеваниям скелета (НЗС) относятся более половины всех врожденных заболеваний, сопровождающихся значительными нарушениями функций пораженных органов и приводящих к инвалидизации [Хисаметдинова Г.Р., 2007; Вальков Р.А., 2017]. Частота встречаемости НЗС в различных популяциях в среднем составляет от 2 до 4,7 случаев на 10 000 населения [Baitner A.C. et al., 2000]. Нозология генетических скелетных заболеваний включает 461 заболевание и классифицируется на 42 группы [Mortier G.R. et al., 2019]. Развитие молекулярно-генетических технологий позволило подтвердить диагноз у более чем 70% больных с клиническими признаками системных поражений скелета [Соловьев Ю.Н., 2003; Маркова Т.В. и др., 2020].

Множественная экзостозная хондродисплазия (МЭХД) – аутосомно-доминантное заболевание, встречающееся в разных популяциях мира с частотой 1:50 000 [Hennekam R.C., 1991; Xia P. et al., 2016; Hong G. et al., 2017]. МЭХД характеризуется наличием множественных хрящевых экзостозов в районах костного роста [Шишкина Н.С. и др., 2004]. Заболевание относится к физарным дисплазиям, характеризуется нарушениями формирования ростковой эпифизарной пластинки. Согласно нозологической классификации генетических скелетных заболеваний МЭХД относится к 29 группе, включающей заболевания с аномальным развитием скелетных компонентов [Mortier G.R. et al., 2019].

Период интенсивного развития МЭХД совпадает с физиологическим ростом скелета в детском и юношеском возрасте. Клиническая картина представлена экзостозами, генерализованными формами поражения скелета с многочисленными прогрессирующими деформациями, укорочением и вторичными изменениями костей и суставов, которые могут вызвать клинические и социально-психологические проблемы, ухудшающие качество жизни больного [Шишкина Н.С. и др., 2004; Фохтин В.В. и др., 2014].

Экзостозы вызывают сдавливание крупных сосудов и нервов, что требует неоднократного хирургического вмешательства по их удалению в период роста и развития организма [Чеснокова Г.Г., 1999; Wang Y. et al., 2020]. Клиническое течение заболевания обусловлено его генетической гетерогенностью. Гены *EXT1* и *EXT2*, ответственные за развитие МЭХД, картированы и клонированы на хромосомах 8q24 и 11p12, соответственно. На сегодняшний день выявлено более 500 мутаций в гене *EXT1* и около 400 – в гене *EXT2*. Также предполагается участие гена *EXT3* в патогенезе заболевания. Данный ген картирован на коротком плече 19 хромосомы [Чеснокова Г.Г., 1999]. При этом считается, что гены *EXT1* и *EXT2* являются генами-супрессорами

канцерогенеза [Lonie L. et al., 2006], т. к. установлено их участие в процессах злокачественной трансформации хрящевой и костной ткани [Чеснокова Г.Г., 1999]. В настоящее время в литературе описаны случаи злокачественной трансформации экзостозов с частотой от 0,5% до 5,0% [Bovee J.V., 2008; Чеснокова Г.Г., 1999; Wang Y. et al., 2020].

Научно-исследовательских работ, посвящённых изучению молекулярно-генетических причин МЭХД в мире достаточно много. В то же время в России данная сторона патологии остаётся малоизученной.

В Республике Саха (Якутия) (РС (Я)) накоплены многолетние данные клинических наблюдений, в которых описываются спорадические и семейные случаи «экзостозной болезни», которые свидетельствуют о достаточно высокой частоте распространенности данной патологии в регионе. При этом клинико-генеалогические, эпидемиологические и молекулярно-генетические исследования МЭХД на современном уровне не проводились. Это обуславливает актуальность фундаментальной научной проблемы по изучению молекулярно-генетических причин данного наследственного заболевания, в том числе и решения медико-социальных задач по диагностике, профилактике и прогнозированию его течения.

Степень научной разработанности темы исследования. Величина и структура груза наследственных болезней среди этнотерриториальных групп является результатом эволюционного развития этносов и этнических популяций [Конева Л.А., 2009]. По данным ряда авторов, в популяциях, сохраняющих традиционный уклад жизни, и существующих долгое время в условиях относительной изоляции, может наблюдаться высокая отягощенность по наследственной патологии [Конева Л.А., 2009; Максимова Н.Р., 2009]. Исследование изолированных популяций позволило медицинским генетикам выявить неизвестные прежде наследственные болезни, картировать их гены, описать клиническую вариабельность. Этнотипическим наследственным болезням были присвоены имена популяций, в которых они встречаются чаще, чем в мировом народонаселении: «еврейские», «финские» заболевания. В группу наследственных болезней, названную «якутской», был отнесен ряд наследственных патологий (спиноцеребеллярная атаксия I типа, миотоническая дистрофия, наследственная энзимопеническая метгемоглобинемия, окулофарингеальная миодистрофия, атаксия Фридрейха, спинальнобульбарная амиотрофия Кеннеди, 3-М синдром и SOPH синдром), которые широко распространены в якутской этнической группе по сравнению с мировым народонаселением [Конева Л.А., 2009; Максимова Н.Р., 2009].

Результаты ранее проведенных молекулярно-генетических исследований указывают на наличие частых мутаций в генах, являющихся причинами ряда распространенных наследственных болезней, характерных только для якутской популяции (наследственная несиндромальная глухота, 3-М синдром, SOPH синдром, наследственная энзимопеническая метгемоглобинемия и др.) [Барашков Н.А., 2007; Максимова Н.Р., 2009; Галеева Н.М. и др., 2013].

МЭХД относится к числу достаточно распространенных наследственных заболеваний. Встречается в разных популяциях с частотой 1,3–2 случая на 100 тыс. населения или 1 на 7000 больных ортопедического профиля [Hennekam R.C., 1991; Wickland C.L. et al., 1995]. Высокие показатели уровня распространенности МЭХД были обнаружены в популяциях коренных жителей острова Гуам (65 на 100 тыс.) и индейцев Поингасси (1298 на 100 тыс.) [Hennekam R.C., 1991; Kang Q. et al., 2013]. В России по данным эпидемиологических исследований наследственных болезней, МЭХД встречается с довольно высокой частотой. При этом отмечается явная этническая и генетическая подразделенность: у татар (4,8 на 100 тыс.), у башкир (0,06 на 100 тыс.), у чувашей (0,34 на 100 тыс.), у адыгейцев (0,9 на 100 тыс.), а также в русских популяциях Костромской области (0,04 на 100 тыс.), Краснодарского края (0,28 на 100 тыс.), Кировской области (0,11 на 100 тыс.), Тверской области (0,39 на 100 тыс.) [Бочков Н.П., 2012; Зинченко Р.А. и др., 2014].

Для контроля груза и профилактики наследственных и врожденных заболеваний с 2001 г. коллективом медико-генетического центра Республиканской больницы №1-Национального центра медицины (МГЦ РБ №1-НЦМ) был введен в работу автоматизированный Республиканский генетический регистр наследственной и врожденной патологии РС (Я), который постоянно обновляется и пополняется новыми данными [Генетические исследования населения Якутии, 2014].

В регистр занесены данные 1955 больных по 112 нозологиям. Наиболее частыми заболеваниями с аутосомно-доминантным типом наследования являются спиноцеребеллярная атаксия 1 типа (337 больных), миотоническая дистрофия (202 больных), нейрофиброматоз Реклинхаузена (136 больных), окулофарингеальная миодистрофия (72 больных), синдром Марфана (47 больных), МЭХД (65 больных) [Генетические исследования населения Якутии, 2014].

В РС (Я) по данным Республиканского генетического регистра наследственной и врожденной патологии по состоянию на 2020 год на диспансерном учете состоят 85 представителей разных этнических групп с установленным клиническим диагнозом МЭХД. До настоящего времени больные проходили только клиническое обследование, инструментальную диагностику и хирургическое лечение с последующим занесением в регистр. Эпидемиологические, молекулярно-генетические и гено-фенотипические исследования не проводились.

Цель исследования: клинико-эпидемиологическое и молекулярно-генетическое изучение множественной экзостозной хондродисплазии в Якутии.

Задачи исследования:

1. Проанализировать распространенность МЭХД в Якутии.
2. Установить спектр мутаций в генах *EXT1* и *EXT2* у больных с МЭХД.
3. Описать клинико-генетические особенности и провести анализ гено-фенотипических ассоциаций в группе больных с МЭХД.
4. Разработать и внедрить молекулярно-генетический метод диагностики МЭХД в практику медико-генетического консультирования в РС (Я).

Научная новизна. В настоящем исследовании впервые получены эпидемиологические данные о распространенности и особенностях клинико-генетического описания МЭХД в РС (Я). Наибольшее количество больных с МЭХД выявлено среди коренного якутского населения. Впервые проведен поиск молекулярно-генетической причины МЭХД с использованием массового параллельного секвенирования (МПС) и секвенирования по Сэнгеру. Обнаружены 10 различных мутаций в генах *EXT1*, *EXT2*. Из них 3 мутации (с.970delT (p.Tyr324Phefs*35), с.1003delC (p.Leu335Trpfs*24), с.1703_1713delCGGTGCTTTCA (p.Thr568Asnfs*16)) в гене *EXT1* являются новыми и ранее неописанными, что расширило спектр мутаций в генах *EXT1* и *EXT2*. Впервые идентифицированы 2 мажорные мутации в гене *EXT2* у больных якутской этнической группы: с.310delA (p.Ile104fs*8) в экзоне 2 и с.751C>T (p.Gln251*) в экзоне 5. Впервые разработан алгоритм диагностики МЭХД с использованием молекулярно-генетических методов, включающий идентификацию 2 мажорных мутаций в гене *EXT2*.

Теоретическая и практическая значимость. Клинико-генеалогические исследования проведены в обширной группе больных с МЭХД и их родственников (85 больных из 41 неродственной семьи). Изучена эпидемиология МЭХД в Якутии, проведено молекулярно-генетическое исследование причин болезни в 31 семье в результате чего 48 пациентам из 25 семей подтвержден диагноз МЭХД. В 6 семьях продолжается поиск патологических вариантов генов, ответственных за развитие заболевания. Результаты данного исследования позволяют расширить известный патологический спектр мутаций в генах *EXT1* и *EXT2*, понять этиологию болезни МЭХД, что в дальнейшем может быть включено в программу ранней диагностики заболевания. Получены новые данные о клинико-генетических особенностях больных с МЭХД в Якутии. На основании результатов научного исследования разработаны 2 медицинские технологии, которые внедрены в диагностическую практику медико-генетического консультирования региона и предназначены для использования врачами различных специальностей. Материалы могут быть использованы в образовательном процессе при подготовке студентов медицинских и биологических факультетов, в учебных программах повышения квалификации на факультетах последипломного образования и в практическом здравоохранении.

Положения, выносимые на защиту:

1. МЭХД является одним из распространенных наследственных заболеваний в Якутии с частотой 8,9 случаев на 100 тыс. населения. Для якутской этнической группы характерна локализация в отдельных улусах с преимущественно коренным населением, где частота колеблется от 47,6 до 116,3 случаев на 100 тыс. населения.
2. Молекулярно-генетическими причинами МЭХД в Якутии являются 10 мутаций (3 новые) в генах *EXT1/EXT2*, обнаруженные в 25 (80,6%) из 31 обследованной семьи. В 16 (64,0%) из 25 семей с установленными молекулярно-генетическими причинами выявлены 2 мажорные мутации в гене *EXT2*: с.310delA (p.Ile104fs*8) – в 12 (48,0%) семьях и с.751C>T (p.Gln251*) – в 4 (16,0%) семьях.

3. Выраженность клинических проявлений МЭХД ассоциирована с мажорными мутациями в гене *EXT2*: с.310delA (p.Ile104fs*8) – с выраженной формой заболевания, а мутация с.751C>T (p.Gln251*) – с умеренной.

4. Разработан и внедрен в практику медико-генетического консультирования алгоритм подтверждающей молекулярно-генетической диагностики частых мутаций с.310delA (p.Ile104fs*8) и с.751C>T (p.Gln251*) в гене *EXT2*, позволяющий определить генетическую причину заболевания у 64,0% пробандов.

Степень достоверности результатов проведенных исследований. Достоверность полученных результатов работы основана на репрезентативной выборке пациентов из Якутии. Аналитическая достоверность обеспечена использованием современных высокоинформативных технологий анализа генома.

Личное участие автора. Автором проведен анализ отечественной и зарубежной литературы по теме диссертационной работы. Автор лично принимала участие при осмотре пациентов, анализировала генетические карты с последующим заполнением индивидуальных протоколов. Принимала участие в экспедиционных выездах с целью сбора образцов крови. Участвовала при формировании выборки для проведения МПС, проводила все этапы молекулярно-генетических исследований (выделение ДНК, ПЦР, прямое секвенирование по Сэнгеру). Автор непосредственно участвовала в статистической обработке полученных данных, включая анализ гено-фенотипических корреляций. Принимала участие в биоинформационном анализе данных секвенирования. Результаты настоящего исследования опубликованы и представлены автором в научных конференциях. Текст и оформление диссертационной работы выполнены лично автором.

Апробация материалов диссертации. Материалы и результаты по теме диссертации представлены в виде устных докладов и тезисов на научно-практических конференциях: на VII Всероссийском конгрессе с международным участием «Экология и здоровье человека на Севере», посвященном 60-летию СВФУ им. М.К. Аммосова (Якутск, 14-19 ноября 2016 г.), VIII Всероссийском конгрессе с международным участием «Экология и здоровье человека на Севере», Аспирантских чтениях «Северное сияние» (Якутск, 13-16 ноября 2017 г.), на II Молодежной конференции с международным участием «Генетика и здоровье: Актуальные вопросы и современные технологии», посвященной 25-летию ГАУ РС (Я) РБ№1-НЦМ (Якутск, 8-9 июня 2017 г.), на XI научной конференции «Генетика человека и патология», посвященной 35-летию Научно-исследовательского института медицинской генетики (Томск, 27-30 ноября 2017 г.), на IV научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы медицинской генетики на крайнем севере», посвященной 30-летию медико-генетической службы и 30-летию курса медицинской генетики в РС (Я) (Якутск, 7-9 июня 2019 г.), на XII научной конференции «Генетика человека и патология»: Актуальные проблемы клинической и молекулярной цитогенетики (Томск, 20-22 ноября 2019 г.), European Human Genetics Conference (Вена, Австрия, 6-9 июня 2020 г.), на IX съезде Российского общества медицинских генетиков (Москва, 30 июня, 1-2 июля 2021 г.), European Human Genetics Conference

(Вена, Австрия, 28-31 августа 2021 г.), Bionformatics of genome regulation and structure/systems biology, the Thirteenth International Multiconference (Новосибирск, Россия, 04-08 июля 2022 г.), на VIII научной конференции «Генетика человека и патология», посвященной 40-летию Научно-исследовательского института медицинской генетики (Томск, 20-22 ноября 2022 г.).

Работа поддержана грантом Главы РС (Я) для молодых ученых, специалистов, студентов (№103-РГ от 7 февраля 2017 г.).

Представленные результаты получены в рамках выполнения государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации. («Геномика Арктики: эпидемиология, наследственность, патология», FSRG–2020–0014).

Публикации. По материалам диссертационного исследования опубликовано 13 научных работ, в том числе 5 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, а также тезисы докладов на российских и международных конференциях.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 206 страницах машинописного текста, содержит 33 таблицы, 36 иллюстраций, 9 приложений. Состоит из следующих разделов: список сокращений, оглавление, введение, основная часть с результатами собственных исследований, заключение, выводы, список литературы и приложения. Библиографический указатель включает 227 источников, из них 81 отечественных и 128 зарубежных авторов, а также 18 интернет ресурсов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование МЭХД проходило в несколько этапов. На первом этапе информация о больных с МЭХД была собрана из Республиканского генетического регистра наследственной и врожденной патологии РС (Я), на базе МГЦ РБ №1-НЦМ РС (Я). Дополнительные сведения получены в ходе экспедиционных выездов для обследования населения улусов.

В Якутии по данным Республиканского генетического регистра наследственной и врожденной патологии зарегистрированы 85 больных с МЭХД из 41 семьи. Распространенность МЭХД была рассчитана как по Республике в целом, так и по отдельным улусам, и этническим группам, исходя из численности населения по данным Всероссийской переписи 2010 г.

На втором этапе клиническое обследование пробандов и их родственников осуществлялось совместно с врачом-генетиком на базе МГЦ РБ №1-НЦМ и в ходе экспедиционных выездов в улусы. От всех исследуемых индивидов было получено информированное добровольное согласие.

Обследование больных и их родственников начиналось с осмотра врача-генетика, где основными критериями диагностики служили фенотипические признаки, наличие множественных экзостозов [Козлова С.И. и др., 1996; <https://www.omim.org/> – OMIM],

заполняли специально составленный нами протокол для каждого отдельного больного и его родственников, включающего анамнез заболевания, сроки проявления признаков заболевания, данные функциональных и инструментальных методов исследований, генеалогическую карту. В клинико-генеалогическое исследование включены 85 больных и их родственников с МЭХД из 41 неродственной семьи. В молекулярно-генетическое исследование включены образцы биоматериала пробандов из 31 семьи, в том числе 57 больных и 11 здоровых родственников. Составлены родословные 41 неродственной семьи, отягощенных МЭХД в 2–4 поколениях. Генеалогические карты составлялись из данных медицинских карт и со слов больных и их родственников. На основании результатов клинического обследования врача-генетика были разработаны критерии, позволяющие условно разделить клиническую картину на 2 формы – выраженную и умеренную. Деление проводили в зависимости от степени клинических проявлений и исходов [Jager M. et al., 2007; Pedrini E. et al., 2011; Kim S. et al., 2022].

На третьем этапе для верификации и валидации молекулярно-генетических анализов использованы методы выделения ДНК, полимеразная цепная реакция, секвенирование клинического экзона на высокопроизводительном секвенаторе MiSeq (Illumina, USA) с использованием панели Trusight One Sequencing panel (Illumina, USA) и секвенирование по Сэнгеру. Для биоинформатического анализа использованы программы Variant Studio 3.0., базы ExAC, 1000G и ESP6500. Для проверки функциональной значимости применяли программные средства SIFT, PolyPhen2, MutationTaster. Для сопоставления клинических данных были использованы некоторые базы данных dbSNP, ClinVar, HGMD, OMIM. Статистический анализ полученных данных проводился с использованием программы IBM SPSS Statistics v.22 (IBM Corporation, USA).

Экспериментальные исследования проведены на базе Центра коллективного пользования Арктического инновационного центра ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова» (СВФУ).

Работа была одобрена локальным комитетом по биомедицинской этике Медицинского института ФГАОУ ВО «СВФУ им. М.К. Аммосова» (г. Якутск, протокол №8 от 11 ноября 2016 г.). Все индивиды состоят на диспансерном учете в МГЦ ГАУ РС (Я) «РБ №1-НЦМ».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Распространенность множественной экзостозной хондродисплазии в Якутии

В Республиканском генетическом регистре наследственной и врожденной патологии МГЦ РБ №1-НЦМ учтено 85 больных с МЭХД из 41 неродственных семей, из них 70 (82,3%) больных из 33 семей представители якутской этнической группы, 8 (9,4%) больных из 5 русских семей, 5 (5,9%) из 1 эвенкийской семьи и по одному (1,2%) случаю из татарской и украинской семей (Рисунок 1).

В РС (Я) МЭХД зарегистрирована в 17 улусах (административно-территориальные единицы) из 34 и г. Якутске [Яковлева А.Е. и др., 2016]. Диапазон

распространенности по улусам составил от 2,3 до 116,4 на 100 тыс. населения, а в целом по РС (Я) – 8,9 на 100 тыс. населения. 17 улусов и г. Якутск, в которых зарегистрированы больные с МЭХД, объединены в 5 территориальных групп (Центральная, Западная, Южная, Восточная, Арктическая). При распределении больных с МЭХД по месту жительства наибольшее количество из них зарегистрировано в Западной и Арктической группах улусов.

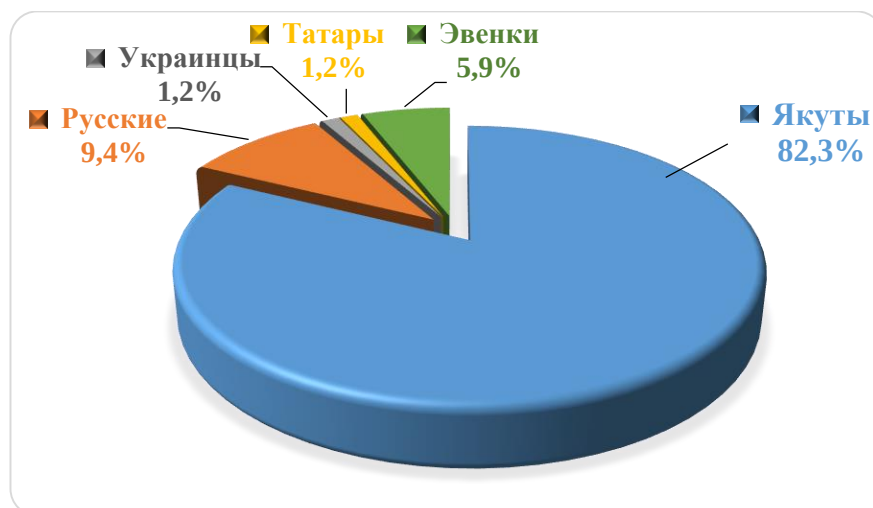


Рисунок 1 – Этнический состав больных с МЭХД

Ввиду того, что наибольшее число больных с МЭХД встречалось среди коренного якутского населения, нами был проведен приблизительный анализ частот и/или распространенности МЭХД среди якутов (Таблица 1).

Таблица 1 – Распространенность МЭХД среди якутов в РС (Я)

Улусы проживания больных МЭХД	Число больных	Численность якутов*	Частота	Распространенность на 100 тыс. населения
Абыйский	2	3541	1:1771	56,5
Верхневиллюйский	2	21128	1:10564	9,5
Верхоянский	3	9454	1:3151	31,7
Вилуйский	12	21294	1:1775	56,4
Горный	3	11241	1:3747	26,7
Кобяйский	9	9446	1:1050	95,3
Мегино-Кангаласский	2	28249	1:14125	7,1
Мирнинский	2	6686	1:3343	29,9
Момский	1	3015	1:3015	33,2
Нюрбинский	2	23896	1:11948	8,4
Оймяконский	1	2932	1:2932	34,1
Сунтарский	16	24400	1:1525	65,6
Усть-Алданский	1	21787	1:21787	4,6
Чурапчинский	1	19970	1: 19970	5,0
Якутск	13	140272	1:10790	9,3
Всего по РС (Я)	70	466492	1:6664	15,0

Примечание: * Рассчитано по данным Всероссийской переписи населения 2010 года.

Таким образом, распространенность МЭХД для всего населения в Якутии составила 8,9 на 100 тыс. населения. Установлено, что в РС (Я) заболевание в основном встречается среди коренного якутского населения с частотой 15,0 на 100 тыс. якутов с накоплением в отдельных улусах (Абыйский (1:1771), Кобяйский (1:1050), Вилюйский (1:1775) и Сунтарский (1:1525)), что в 2 и более раза выше, чем в общеевропейской популяции и регионах России. Причины накопления больных с МЭХД у якутов можно объяснить изолированностью, эффектом основателя и расширенным характером воспроизводства.

Клинико-генеалогический анализ больных с МЭХД в Якутии

В клинико-генеалогическое исследование включены 85 больных и их родственников с МЭХД из 41 неродственных семей. Составлены родословные в 2–4 поколениях (Рисунок 2).

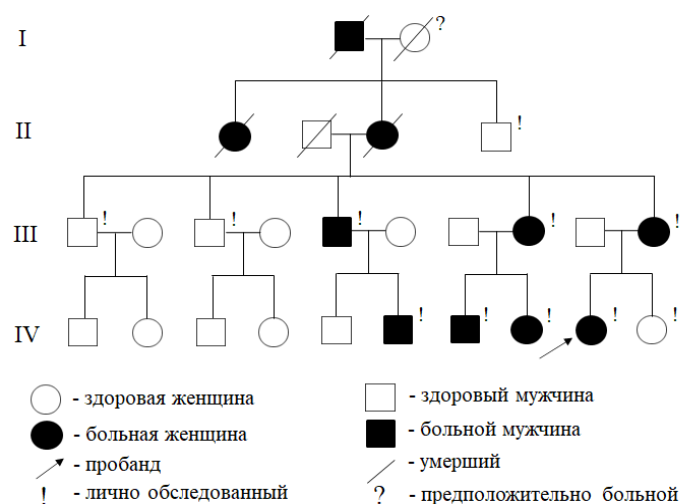


Рисунок 2 – Родословная семьи, отягощенной МЭХД

В результате проведенного клинико-генеалогического анализа возраст манифестации заболевания составлял от рождения до 14 лет, средний возраст манифестации равнялся 4–5 годам. При этом не все пациенты могли уточнить возраст манифестации, так как клиническая картина имеет внутрисемейный клинический полиморфизм и зависит от числа, величины, локализации экзостозов и обусловленных ими деформаций. По половой принадлежности наблюдается незначительное преобладание числа больных мужского пола 44 (51,8%) по сравнению с женщинами – 41 (48,2%).

Всех больных с МЭХД условно распределили на 2 группы с выраженной и умеренной формами болезни [Jager M. et al., 2007; Pedrini E. et al., 2011; Kim S. et al., 2022]. В группу с выраженной формой включили больных со следующими клиническими проявлениями: ограничение подвижности верхних и нижних конечностей, трудности при ходьбе, укорочение конечности, деформация костей, хирургическое лечение и инвалидизация. В группу с умеренной формой вошли больные без выше указанных клинических проявлений МЭХД.

Анализ клинических проявлений показал, что у больных с умеренной формой в среднем обнаруживается по $3,8 \pm 2,5$ экзостозов, а у больных с выраженной формой заболевания – $4,9 \pm 2,6$. Экзостозы чаще встречаются на верхних и нижних конечностях. При этом деформация костей и укорочение конечностей наблюдалось у 21 (24,7%) больного, ограничение подвижности верхних конечностей – у 17 (20,0%), нижних конечностей – у 13 (15,3%), трудности при ходьбе – у 6 (7,1%), получили хирургическое лечение 31 (36,5%) больной, инвалидность по заболеванию оформили 15 (17,6%) больных. Оценка степени клинических проявлений больных свидетельствует в пользу умеренного течения болезни без злокачественной трансформации экзостозов.

Идентификация вариантов нуклеотидной последовательности множественной экзостозной хондродисплазии в Якутии

Для молекулярно-генетического исследования были отобраны 57 образцов ДНК больных с МЭХД и 11 образцов ДНК здоровых родственников из 31 семьи.

На первом этапе исследования проведен поиск молекулярно-генетической причины МЭХД с применением массового параллельного секвенирования. Для первого запуска МПС был отобран 1 пробанд с наиболее характерной фенотипической картиной МЭХД для проведения экзомного секвенирования, включающего 4800 генов-кандидатов с известным клиническим значением, включающие мутации в генах *EXT1* и *EXT2*. По результатам секвенирования был найден патогенный вариант с.751C>T (p.Gln251*) в гене *EXT2*. Далее был проведен поиск данного варианта методом секвенирования по Сэнгеру в общей выборке, состоящей из 57 больных, включая пробанда. По результатам поиска данный вариант был обнаружен у 18 больных из 4 неродственных семей, включая семью первого пробанда. В 3 других семьях МПС не проводилось в связи с выявлением причины заболевания. В остальных 27 неродственных семьях проведено МПС. Результаты исследования позволили идентифицировать патологические варианты в генах *EXT1* и *EXT2* у 21 пробанда. В том числе в гене *EXT1* найдено 8 вариантов, а в гене *EXT2* – 1 (Таблица 2).

Таблица 2 – Спектр всех выявленных мутаций в генах *EXT1*, *EXT2* при МПС

№	Ген	Экзон	Мутация	АК замена
1	<i>EXT1</i>	1	c.854dupA	p.His285Glnfs*4
2	<i>EXT1</i>	2	c.970delT	p.Tyr324Phefs*35
3	<i>EXT1</i>	2	c.1003delC	p.Leu335Trpfs*24
4	<i>EXT1</i>	2	c.1019G>A	p.Arg340His
5	<i>EXT1</i>	4	c.1171delT	p.Ser391Leufs*12
6	<i>EXT1</i>	8	c.1703_1713del CGGTGCTTTCA	p.Thr568Asnfs*16
7	<i>EXT1</i>	9	c.1883+2T>A	в сайте сплайсинга
8	<i>EXT1</i>	11	c.2101C>T	p.Arg701*
9	<i>EXT2</i>	2	c.310delA	p.Ile104fs*8
10	<i>EXT2</i>	5	c.751C>T	p.Gln251*

У 6 пробандов мутацию установить не удалось. Следующим этапом была валидация результатов методом секвенирования по Сэнгеру.

Спектр обнаруженных вариантов при МПС в гене *EXT1* оказался разнообразным: мутации сдвига рамки считывания (5), нонсенс-мутации (1), миссенс-мутации (2), а также встречается мутация в сайте сплайсинга (1). При этом (3) из выявленных мутаций в гене *EXT1* – новые, ранее неописанные (Рисунок 3).

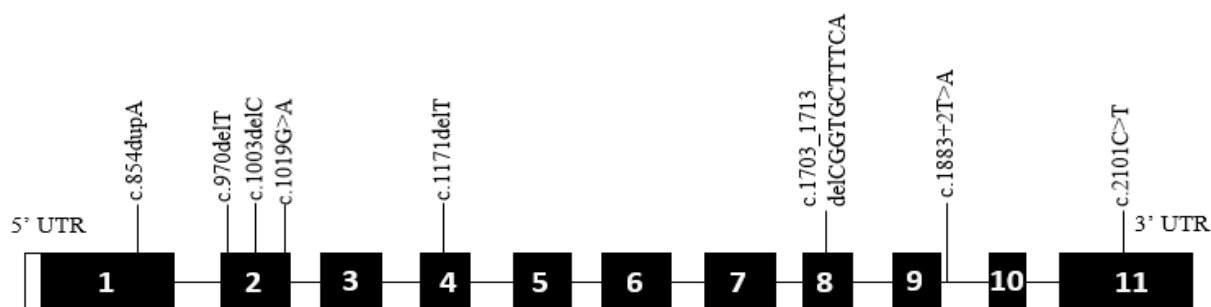


Рисунок 3 – Выявленные мутации в гене *EXT1* у больных с МЭХД

В гене *EXT2* были обнаружены мутации сдвига рамки считывания (12) и нонсенс-мутация (1). Верифицированные мутации в гене *EXT2* оказались мажорными среди больных якутской этнической группы (Рисунок 4).

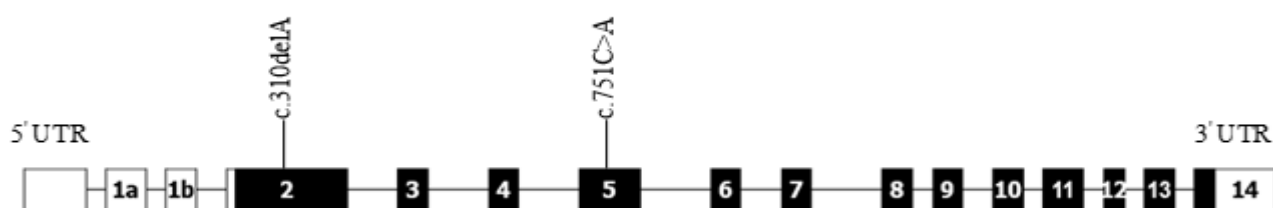


Рисунок 4 – Выявленные мутации в гене *EXT2* у больных с МЭХД

Валидация результатов МПС методом прямого секвенирования по Сэнгеру

При валидации подтверждено 10 вариантов нуклеотидной последовательности в генах *EXT1* и *EXT2* у 48 (84,2%) больных из 25 неродственных семей, 3 мутации (c.970delT (p.Tyr324Phefs*35), c.1003delC (p.Leu335Trpfs*24), c.1703_1713delCGGTGCTTCA (p.Thr568Asnfs*16) в гене *EXT1* были новыми, что расширило спектр мутаций в генах *EXT1* и *EXT2*. У 9 больных из 6 неродственных семей в генах *EXT1* и *EXT2* мутация не установлена.

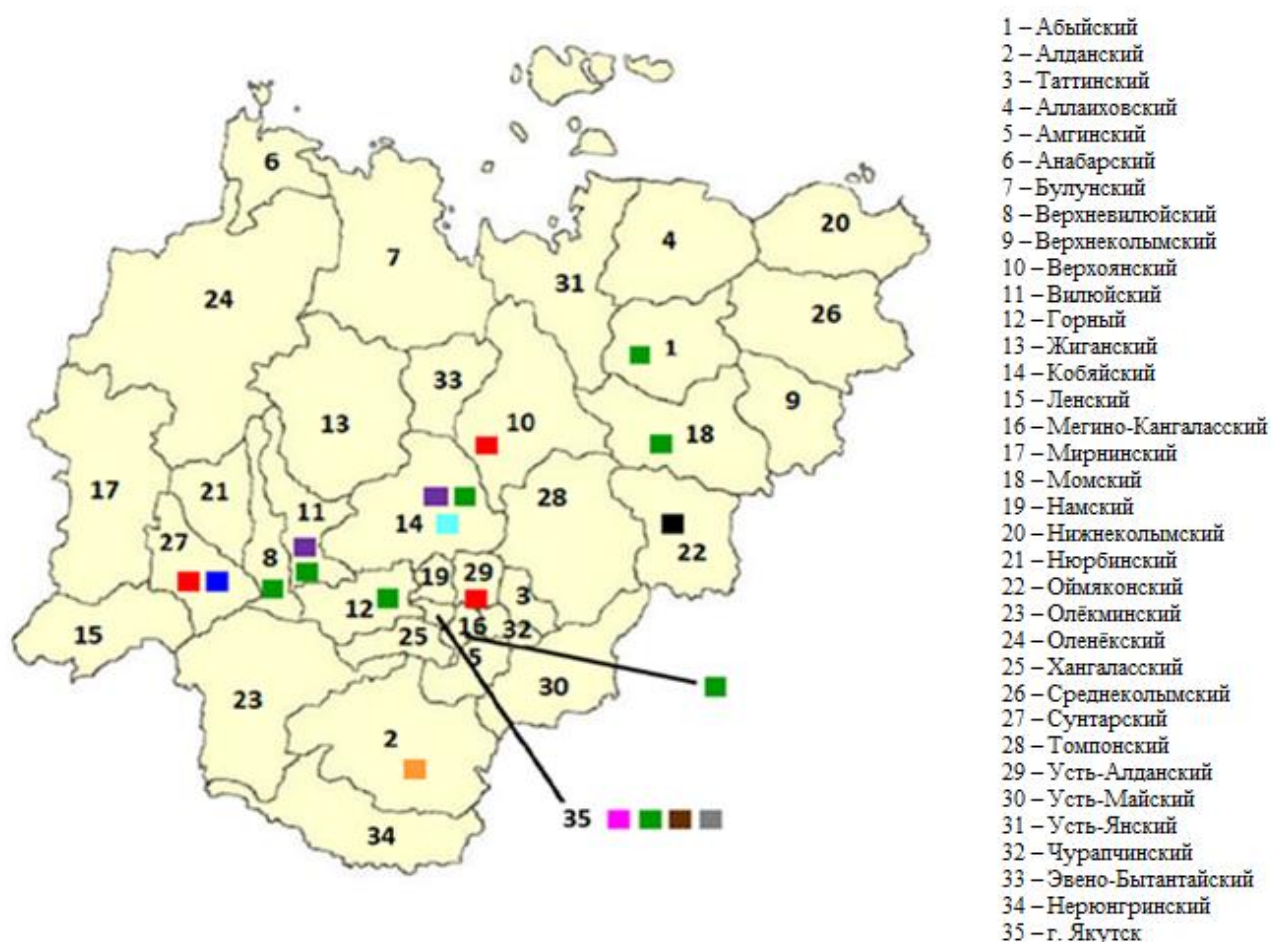
По литературным данным, мутации в гене *EXT2* встречаются в 3 раза реже, чем в гене *EXT1* [Krooth R. et al., 1961]. По нашим данным у населения Якутии, в отличие от других популяций, высокая частота мутаций отмечается в гене *EXT2*. Так частота мутаций в гене *EXT1* составила 27,1%, а в гене *EXT2* – 72,9%. При этом мутация c.310delA (p.Ile104fs*8) в гене *EXT2* обнаружена в 12 неродственных якутских семьях, а мутация c.751C>T в гене *EXT2* – в 4. Такое количество семей с одинаковой мутацией в условиях однородной этнической группы указывает на возможный эффект

основателя. Результаты исследования свидетельствует в пользу строгой ассоциации выявленных вариантов генов с клинической картиной больных с МЭХД. В контрольной группе здоровых родственников больных идентифицированные нами мутации не выявлены.

Распределение выявленных мутаций в генах *EXT1/EXT2* по районам (улусам) РС (Я)

Распределение выявленных 10 мутаций (48 больных с МЭХД) в генах *EXT1* и *EXT2* по улусам РС (Я) представлено на рисунке 5. Больные проживали в следующих улусах: Абыйский, Алданский, Верхневилуйский, Верхоянский, Вилуйский, Горный, Кобяйский, Мегино-Кангаласский, Момский, Оймяконский, Сунтарский, Усть-Алданский и г. Якутск (Рисунок 5).

Районы (улусы) и городской округ Республики Саха (Якутия)



■ - c.854dupA*	■ - c.970delT*	■ - c.1003delC*	■ - c.1019G>A*
■ - c.1171delT*	■ - c.1703_1713delCGGTGCTTTCA*	■ - c.1883+2T>A*	
■ - c.2101C>T*	■ - c.310delA**	■ - c.751C>T**	

Примечание: * мутации в гене *EXT1*; ** мутации в гене *EXT2*

Рисунок 5 – Распределение мутаций в генах *EXT1* и *EXT2* по районам (улусам) и городского округа г. Якутска

Из общего числа найденных мутаций наиболее распространенными являются 2 мутации (с.310delA (p.Ile104fs*8), с.751C>T (p.Gln251*)) в гене *EXT2*. Мутация с.310delA (p.Ile104fs*8) в гене *EXT2* обнаружена у больных в 7 улусах и 1 городском округе: Абыйском, Верхневилуйском, Вилуйском, Горном, Кобяйском, Мегино-Кангаласском, Момском и г. Якутске. Вторая мутация с.751C>T (p.Gln251*) в гене *EXT2* выявлена у больных в 3 улусах: Верхоянском, Сунтарском и Усть-Алданском.

Наиболее широкий спектр мутаций зарегистрирован в г. Якутске и Кобяйском улусе, а более узкий спектр – в Вилуйском и Сунтарском улусах.

В г. Якутске выявлены 3 мутации в гене *EXT1*: с.854dupA (p.His285Glnfs*4) – 1 больной, с.1883+2T>A – 3 больных, с.2101C>T (p.Arg701*) – 1 больной; 1 мутация в гене *EXT2*: с.310delA (p.Ile104fs*8) – 4 больных. В Кобяйском улусе выявлены 2 мутации в гене *EXT1*: с.1703_1713delCGGTGCTTTCA (p.Thr568Asnfs*16) – 1 больной, с.1019G>A (p.Arg340His) – 1 больной; 1 мутация в гене *EXT2*: с.310delA (p.Ile104fs*8) – 4 больных.

В Вилуйском улусе обнаружены 1 мутация в гене *EXT1*: с.1019G>A (p.Arg340His) – 3 больных; 1 мутация в гене *EXT2*: с.310delA (p.Ile104fs*8) – 5 больных. В Сунтарском улусе выявлена 1 мутация в гене *EXT1*: с.1171delT (p.Ser391Leufs*12) – 1 больной; 1 мутация в гене *EXT2*: с.751C>T (p.Gln251*) – 14 больных. В остальных улусах зарегистрированы единичные случаи.

Гено-фенотипический анализ больных с мутациями в генах *EXT1/EXT2*

Гено-фенотипический анализ проводили на выборке из 48 больных с МЭХД. Результаты показали, что клинические проявления (локализации экзостозов) при множественной экзостозной хондродисплазии в основном зависят от конкретной мутации, а не от гена (*EXT1* или *EXT2*) в целом. Количество экзостозов в изученных локализациях у больных с МЭХД не зависело от локализации мутаций в генах *EXT1/EXT2*. В то же время результаты сравнительного анализа частоты клинических проявлений при разных мутациях показали наличие статистически значимых ассоциаций ограничения подвижности нижних конечностей с с.1003delC (p.Leu335Trpfs*24) и ограничения подвижности верхних конечностей с.1883+2T>A в гене *EXT1*. При носительстве данных мутаций повышаются шансы развития указанных клинических проявлений в среднем в 7,8 (1,02–59,61) и 7,66 раза (1,003–58,47) соответственно, по сравнению с носителями других мутаций. При мутациях в гене *EXT1* локализация экзостозов чаще встречается на туловище и верхних конечностях, а в гене *EXT2* – на верхних и нижних конечностях. Хирургическое лечение часто назначалось больным с мутацией в гене *EXT2*.

Дальнейший поиск ассоциации клинических форм МЭХД с локализациями экзостозов выявил, что сочетанное развитие экзостозов на плечевой и большеберцовой костях характерно для выраженной формы заболевания. В свою очередь установлена ассоциативная связь данного сочетания экзостозов с мутацией с.310delA (p.Ile104fs*8) в гене *EXT2*. Так, у 82,4% больных с с.310delA (p.Ile104fs*8) регистрируется сочетание

экзостозов на плечевой и большеберцовой костях. Наблюдаемая ассоциация является статистически значимой (Рисунок 6).

С другой стороны, носительство мутации с.751C>T (p.Gln251*) в гене *EXT2* ассоциируется с редкой частотой экзостозов на большеберцовой и малоберцовой костях, а также отсутствием экзостозов на голеностопном суставе. Изучение роли данной мутации в развитии умеренной формы заболевания с помощью математического моделирования показало её прогностическую ценность. Общая точность прогноза составила 68,42%. Показано, что носительство данной мутации в 4 раза повышает шансы развития умеренной формы МЭХД.

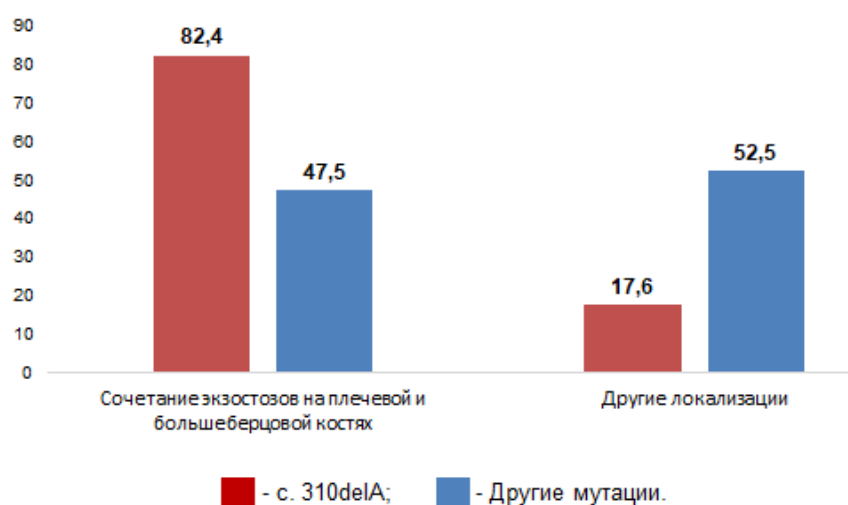


Рисунок 6 – Частота экзостозов на плечевой и большеберцовой костях при наличии и отсутствии мутации с.310delA (p.Ile104fs*8), %

Таким образом, на основании результатов гено-фенотипического анализа можем сделать заключение о том, что мажорные мутации с.310delA (p.Ile104fs*8) и с.751C>T (p.Gln251*) в гене *EXT2*, частые в якутской популяции, являются генетическими факторами, значительно влияющими на выраженность клинических проявлений МЭХД. Молекулярно-генетические причины МЭХД – с.310delA (p.Ile104fs*8) и с.751C>T (p.Gln251*) в гене *EXT2* ассоциируются с выраженной и умеренной клиническими формами заболевания соответственно. Наличие устойчивых гено-фенотипических ассоциаций делает возможным прогнозирование клинического течения МЭХД у якутских больных в зависимости от результатов молекулярно-генетической диагностики.

Алгоритм диагностики множественной экзостозной хондродисплазии в Якутии

На основе проведенного исследования впервые разработан алгоритм диагностики МЭХД с использованием молекулярно-генетических методов, включающий идентификацию 2 мажорных мутаций в гене *EXT2* с.310delA (p.Ile104fs*8), с.751C>T (p.Gln251*), включающий в себя обязательное обследование родственников пробанда,

осмотр специалистов (врач-генетик, ортопед, невролог), клинико-генеалогический анализ, лабораторные и функциональные методы исследования и молекулярно-генетический анализ (ДНК-диагностика) (Рисунок 7), (акты о внедрении «Молекулярная диагностики МЭХД в гене *EXT2*» от 10.10.2019, «ДНК-диагностика гетерозиготной мутации с.310delA (p.Ile104fs*8) в гене *EXT2*» от 20.12.2021. Планируется провести молекулярную диагностику в группе больных с клиническими проявлениями МЭХД.

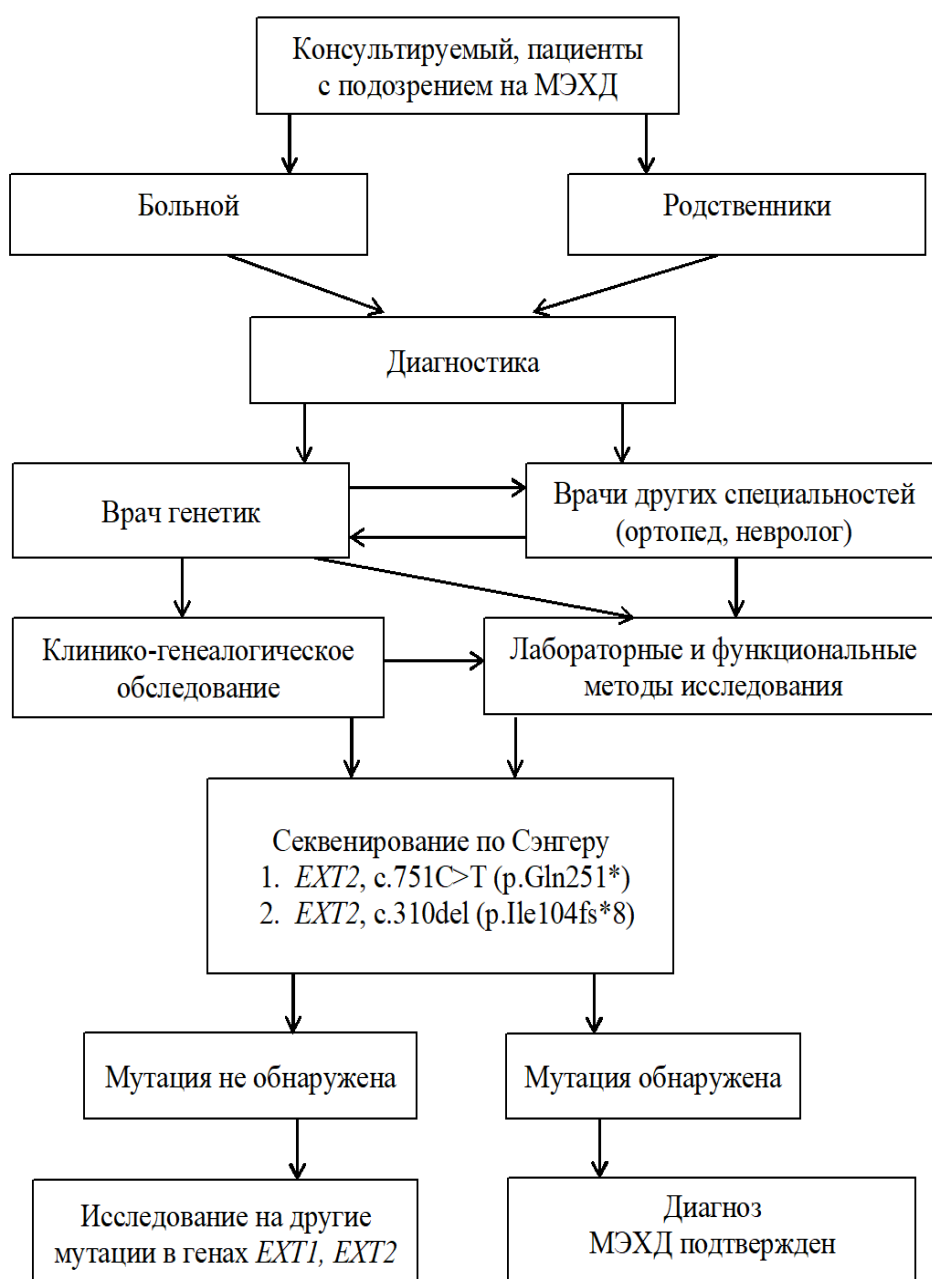


Рисунок 7 – Алгоритм диагностики множественной экзостозной хондродисплазии

Выявленные 2 мажорные мутации в гене *EXT2* с.310delA (p.Ile104Serfs*8), с.751C>T (p.Gln251*) встречаются в 16 (64,0%) неродственных семьях из якутской этнической группы.

На рисунке 7 представлен разработанный нами алгоритм диагностики МЭХД в Республике Саха (Якутия) с применением молекулярно-генетических методов диагностики.

У якутов наблюдается высокая частота редких наследственных заболеваний, молекулярно-генетическими причинами которых являются мажорные мутации. Их высокий уровень накопления в якутской популяции может быть объяснен «эффектом основателя» [Генетические исследования населения Якутии, 2014].

Алгоритм был внедрен в работу МГЦ ГАУ РС(Я) РБ№1-НЦМ и может быть использован для рутинной молекулярно-генетической диагностики при медико-генетическом консультировании больных с МЭХД.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе выполнения научно-исследовательской работы впервые проведено эпидемиологическое, молекулярно-генетическое и клинико-генеалогическое изучение МЭХД в Якутии. В РС (Я) по данным Республиканского генетического регистра наследственной и врожденной патологии на диспансерном учете состоят 85 представителей разных этнических групп с установленным клиническим диагнозом МЭХД.

При анализе географической распространенности выявлено, что заболевание зарегистрировано в 17 улусах (административно-территориальные единицы) из 34 и г. Якутске. Показатели распространенности по улусам составили от 2,3 до 116,4 на 100 тыс. населения, а в целом по РС (Я) – 8,9 на 100 тыс. населения. 17 улусов и г. Якутск, в которых зарегистрированы больные с МЭХД, объединены в 5 территориальных групп (Центральная, Западная, Южная, Восточная, Арктическая). При распределении больных с МЭХД по месту жительства наибольшее количество из них зарегистрировано в Западной и Арктической группах улусов.

Установлено, что в РС (Я) заболевание в основном встречается среди якутского населения с частотой 15,0 на 100 тыс. якутов с накоплением в отдельных улусах (Абыйский (1:1771), Кобяйский (1:1050), Вилюйский (1:1775) и Сунтарский (1:1525)), что в 2 и более раза выше, чем в общеевропейской популяции и регионах России.

По данным ранее проведенных молекулярно-генетических исследований наследственных для якутской популяции характерно накопление наследственных заболеваний с доказанным «эффектом основателя». Причиной данных заболеваний являются мажорные мутации, например, окулофарингеальная миодистрофия, нейросенсорная глухота 1А типа, наследственная энзимопеническая метгемоглобинемия 1 типа, 3-М синдром, SOPH синдром и др. [Пузырев В.П., Максимова Н.Р., 2008; Генетические исследования населения Якутии, 2014; Степанова С.К., 2015 и др.]. МЭХД также можно отнести к частым наследственным заболеваниям, характерным для якутской этнической группы.

В результате проведенного клинико-генеалогического анализа возраст манифестации заболевания составлял от рождения до 14 лет, средний возраст манифестации равнялся 4–5 годам. Клиническая картина имеет внутрисемейный

клинический полиморфизм и зависит от числа, величины, локализации экзостозов и обусловленных ими деформаций. По половой принадлежности наблюдается незначительное преобладание числа больных мужского пола 44 (51,8%) по сравнению с женщинами – 41 (48,2%).

Всех больных с МЭХД условно распределили на 2 группы – с выраженной и умеренной формами болезни. В группу с выраженной формой включили больных со следующими клиническими проявлениями: ограничение подвижности верхних и нижних конечностей, трудности при ходьбе, укорочение конечности, деформация костей, хирургическое лечение и инвалидизация. В группу с умеренной формой вошли больные без выше указанных клинических проявлений МЭХД.

Анализ клинических проявлений у обследованных больных показал, что в среднем на одного больного обнаруживается $3,8 \pm 2,5$ экзостозов, а у больных с выраженной формой заболевания – $4,9 \pm 2,6$. Экзостозы больше встречаются на верхних и нижних конечностях. При этом деформацию костей и укорочение конечности имели 21 (24,7%) больной. Ограничение подвижности верхних конечностей было у 17 (20,0%), нижних конечностей – у 13 (15,3%), трудности при ходьбе имелись у 6 (7,1%), хирургическое лечение прошли 31 (36,5%) больных. Инвалидность по заболеванию оформили 15 (17,6%). Оценка клинических проявлений, обследованных больных свидетельствует в пользу умеренного течения болезни без злокачественной трансформации экзостозов.

Для молекулярно-генетического исследования были доступны 57 образцов ДНК больных с МЭХД и 11 образцов ДНК здоровых родственников из 31 семьи, в результате анализа 48 больным из 25 семей выставлен точный диагноз МЭХД. Исследование проведено с помощью современных методов ДНК диагностики с применением технологии массового параллельного секвенирования (МПС) и секвенирования по Сэнгеру. Молекулярно-генетической причиной МЭХД явились 10 мутаций в генах *EXT1*, *EXT2*, (3 новые), обнаруженные в 25 (80,6%) семьях. В 16 (64,0%) семьях с МЭХД выявлены 2 мажорные мутации с.310delA (p.Ile104Serfs*8), с.751C>T (p.Gln251*) в гене *EXT2*.

В гене *EXT1* обнаружено 8 мутаций – с.854dupA (p.His285Gln fs*4), с.970delT (p.Tyr324Phefs*35), с.1003delC (p.Leu335Trpfs*24), с.1019G>A (p.Arg340His), с.1171delT (p.Ser391Leufs*12), с.1703_1713delCGGTGCTTTCA (p.Thr568Asnfs*16), с.1883+2T>A, с.2101C>T (p.Arg701*). В гене *EXT2* выявленные 2 мутации оказались частыми среди больных якутской этнической группы – с.310delA (p.Ile104Serfs*8), с.751C>T (p.Gln251*). При этом мутация с.310delA (p.Ile104Serfs*8) в гене *EXT2* обнаружена в 12 неродственных семьях, а мутация с.751C>T (p.Gln251*) в гене *EXT2* – в 4 семьях. Наблюдаемая частота семей с одной и той же мутацией в условиях этнической группы указывает на возможный эффект основателя и вероятнее всего возникли в результате дрейфа генов. У 9 больных из 6 неродственных семей в генах *EXT1* и *EXT2* мутация не установлена. Продолжается поиск патологических вариантов генов, ответственных за развитие заболевания.

В результате гено-фенотипического анализа частоты экзостозов по изученным локализациям и частоты клинической характеристики больных с МЭХД в зависимости от исследованных генов *EXT1/EXT2* показали, что статистически значимых различий нет. А при сравнении отдельно по мутациям ограничение подвижности нижних конечностей статистически значимо ассоциируется с мутацией с.1003delC (p.Leu335Trpfs*24) в гене *EXT1*, при этом вероятность развития данного клинического проявления в среднем в 7,8 раза (1,02–59,61) выше, чем у носителей других мутаций. И при мутации с.1883+2T>A в гене *EXT1* также значимо повышается вероятность возникновения ограничения подвижности верхних конечностей в 7,66 раза (1,003–58,47). Локализация экзостозов с мутацией в гене *EXT1* встречается больше на туловище и верхних конечностях, в гене *EXT2* на верхних и нижних конечностях. Хирургическое лечение проведено больше у больных с мутацией в гене *EXT2*.

При распределении выявленных мутаций в генах *EXT1/EXT2* по улусам РС (Я) больные проживали в следующих улусах: Абыйский, Алданский, Верхневилуйский, Верхоянский, Вилуйский, Горный, Кобяйский, Мегино-Кангаласский, Момский, Оймяконский, Сунтарский, Усть-Алданский и г. Якутск. Из общего числа найденных мутаций наиболее распространенными являются 2 мутации (с.310delA (p.Ile104fs*8), с.751C>T (p.Gln251*)) в гене *EXT2*. Мутация с.310delA (p.Ile104fs*8) в гене *EXT2* обнаружена у больных в 7 улусах и 1 городском округе: Абыйском, Верхневилуйском, Вилуйском, Горном, Кобяйском, Мегино-Кангаласском, Момском и г. Якутске. Вторая мутация с.751C>T (p.Gln251*) в гене *EXT2* выявлена у больных в 3 улусах: Верхоянском, Сунтарском и Усть-Алданском. Наиболее широкий спектр мутаций зарегистрирован в г. Якутске и Кобяйском улусе, а более узкий спектр – в Вилуйском и Сунтарском улусах.

На основании результатов статистического анализа мажорные мутации в гене *EXT2* с.310delA (p.Ile104fs*8) и с.751C>T (p.Gln251*), наиболее часто встречающиеся в якутской популяции, определяют выраженность клинических проявлений наследственного заболевания множественной экзостозной хондродисплазии, являющиеся молекулярно-генетической причиной МЭХД. Мутация с.310delA (p.Ile104fs*8) в гене *EXT2* ассоциируется с выраженной клинической формой, а с.751C>T (p.Gln251*) в гене *EXT2* – с умеренной. Наличие устойчивых гено-фенотипических ассоциаций даёт возможность прогнозирования дальнейшего клинического течения МЭХД у якутских больных с момента молекулярно-генетической диагностики.

Таким образом, МЭХД является частой наследственной патологией в Якутии, наиболее распространённой в якутской этнической группе. Молекулярно-генетические причины данной патологии отличаются широким спектром мутаций, в том числе выявляются ранее не описанные варианты нуклеотидных последовательностей. Идентифицировано 10 вариантов нуклеотидной последовательности в 25 (80,6%) семьях из обследованной 31 семьи. У якутов в 16 (64,0%) из 25 семей с установленными молекулярно-генетическими причинами выявлены 2 мажорные мутации в гене *EXT2*: с.310delA (p.Ile104fs*8) – в 12 (48,0%) семьях и с.751C>T

(p.Gln251*) – в 4 (16,0%) семьях. Также мажорные мутации были ранее найдены и при других наследственных забо-леваниях в якутской популяции (3-м синдром, SOPH-синдром, нейросенсорная глухота 1 типа, ОФМД и др.). Причины накопления больных с МЭХД у якутов можно объяснить изолированностью, эффектом основателя и расширенным характером воспроизводства.

МЭХД обладает клиническим полиморфизмом, обусловленным разным клиническим течением болезни. Клиническая картина больных заметно отличается выраженностью. В свою очередь выраженность клинических проявлений ассоциируется с мажорными мутациями в гене *EXT2*. Наличие устойчивых гено-фенотипических ассоциаций может дать возможность прогнозирования дальнейшего клинического течения МЭХД у носителей мажорных мутаций.

В данной исследовательской работе полученные нами результаты позволили расширить патологический спектр мутаций генов *EXT1/EXT2* и установить этиологию болезни. Изучение вопросов при данном заболевании должно быть продолжено.

ВЫВОДЫ

1. Множественная экзостозная хондродисплазия является наследственной патологией с высокой степенью распространённости в якутской популяции, более чем в 2 раза превышающей аналогичные показатели в общероссийской и европейской популяциях. Распределение частоты мутаций носит очаговый характер с накоплением в отдельных улусах, в которых проживает преимущественно коренное население.

2. Молекулярно-генетическими причинами изученной наследственной патологии являются мутации в генах *EXT1* и *EXT2*, 3 (с.970delT (p.Tyr324Phefs*35), с.1003delC (p.Leu335Trpfs*24), с.1703_1713delCGGTGCTTTCA (p.Thr568Asnfs*16) в гене *EXT1*) из которых описаны впервые. Якутская популяция характеризуется высокой частотой носительства 2 мажорных мутаций с.310delA (p.Ile104fs*8) и с.751C>T (p.Gln251*) в гене *EXT2*.

3. Клинический полиморфизм множественной экзостозной хондродисплазии у обследованных больных обусловлен генетической гетерогенностью популяции и может подразделяться на умеренную и выраженную формы.

4. Мажорные мутации с.310delA (p.Ile104fs*8) и с.751C>T (p.Gln251*) в гене *EXT2* дают гено-фенотипические ассоциации с развитием разных клинических форм множественной экзостозной хондродисплазии. Мутация с.310delA (p.Ile104fs*8) ассоциирована с выраженной формой заболевания, а мутация с.751C>T (p.Gln251*) – с умеренной.

5. Разработанные и внедрённые в практику медико-генетического консультирования методы молекулярно-генетической диагностики мажорных мутаций с.310delA (p.Ile104fs*8) и с.751C>T (p.Gln251*) в гене *EXT2* представляют значительный интерес для клинических специалистов как для уточнения диагноза больных, так и для прогнозирования течения множественной экзостозной хондродисплазии и позволяют выявить молекулярную этиологию заболевания у 64,0% пробандов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых журналах перечня ВАК РФ

1. Яковлева А.Е., Максимова Н.Р. Молекулярно-генетические причины множественной экзостозной хондродисплазии // Якутский медицинский журнал. 2018. №3. С. 94–98.
2. Яковлева А.Е., Петухова Д.А., Голикова П.И., Гуринова Е.Е., Данилова А.Л., Сухомясова А.Л., Максимова Н.Р. Случай множественной экзостозной хондродисплазии в якутской семье, обусловленной редкой мутацией в гене *EXT2* // Медицинская генетика. 2019. Т. 18. №12 (209). С. 25–33.
3. Яковлева А.Е., Петухова Д.А., Данилова А.Л., Сухомясова А.Л., Максимова Н.Р. Молекулярно-генетический анализ в гене *EXT2* – причины множественной экзостозной хондродисплазии у якутов // Медицинская генетика. 2020. Т. 19. № 8 (217). С. 59–60.
4. Яковлева А.Е., Петухова Д.А., Данилова А.Л., Сухомясова А.Л., Максимова Н.Р. Поиск мутаций в генах *EXT1* и *EXT2* у больных с множественной экзостозной хондродисплазией в Республике Саха (Якутия) // Якутский медицинский журнал. 2020. №4(72). С. 31–33.
5. Яковлева А.Е., Данилова А.Л., Федоров А.И., Петухова Д.А., Николаева И.А., Сухомясова А.Л., Максимова Н.Р. Гено-фенотипический анализ у больных с множественной экзостозной хондродисплазией в якутской популяции // Медицинская генетика. 2022. Т. 21. №10. С. 69–74.

Статьи в других журналах

1. Яковлева А.Е., Данилова А.Л., Гуринова Е.Е., Иванова Р.Н., Сухомясова А.Л., Максимова Н.Р. Изучение множественной экзостозной хондродисплазии в Республике Саха (Якутия) // Вестник Северо-Восточного федерального университета им М.К. Аммосова. 2017. №3(4). С. 114–117.
2. Yakovleva A., Danilova A., Petukhova D., Sukhomyasova A., Maksimova N. Molecular genetic study of multiple hereditary exostoses in the *EXT2* gene // Advances in Health Sciences Research. 2022. Volume 42. P. 251–255.

Тезисы конференций

1. Яковлева А.Е., Сухомясова А.Л., Максимова Н.Р., Данилова А.Л., Пономарева С.И., Гуринова Е.Е., Иванова Р.Н. Множественная экзостозная хондродисплазия в Республике Саха (Якутия) // Сборник научных трудов XI научной конференции «Генетика человека и патология», посвященной 35-летию Научно-исследовательского института медицинской генетики, г. Томск. Выпуск 11. Под редакцией В.А. Степанова. 2017. С. 156–157.
2. Яковлева А.Е., Петухова Д.А., Голикова П.И., Данилова А.Л., Сухомясова А.Л., Максимова Н.Р. Идентификация новой мутации в гене *EXT2* причины множественной экзостозной хондродисплазии в якутской семье // Сборник тезисов IV научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицинской генетики на крайнем Севере», 2019. С. 69–70.

3. Яковлева А.Е., Петухова Д.А., Данилова А.Л., Голикова П.И., Сухомясова А.Л., Максимова Н.Р. Новая мутация в гене *EXT2* у больных с множественной экзостозной хондродисплазией в Якутии // в книге: Генетика человека и патология: актуальные проблемы клинической и молекулярной цитогенетики. Сборник научных трудов. 2019. С. 72.
4. Yakovleva A.E., Danilova A.L., Savvina M.T., Petukhova D.A., Sukhomyasova A.L., Maksimova N.R. Identification of rare mutation in *EXT2* gene among patients with multiple hereditary exostoses // European Journal of Human Genetics (Abstracts from the 53 European Society of Human Genetics (ESHG)). 2020. P. 831–832.
5. Yakovleva A.E., Danilova A.L., Petukhova D.A., Golikova P.I., Moskvitin G.D., Sukhomyasova A.L., Maksimova N.R. A new variant of p.Ile137fs in the *EXT2* gene identified in Yakut families with hereditary multiple exostosis // European Journal of Human Genetics (Abstracts from the 54 European Society of Human Genetics (ESHG)) Conference: e-Posters. 2022. P. 165. 30:88 – 608
6. Yakovleva A., Danilova A., Petukhova D., Golikova P., Fedorov A., Nikolaeva I., Sukhomyasova A., Maksimova N. The spectrum of mutations in the *EXT1* gene among patients with Multiple Hereditary Exostoses in the Republic of Sakha (Yakutia) // Bionformatics of genome regulation and structure/systems biology (BGRS/SB-2022) The Thirteenth International Multiconference Abstracts. 2022. P. 459–460.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

МО – множественные остеохондромы
 МЭХД – множественная экзостозная хондродисплазия
 НЗС – наследственные заболевания скелета
 ОП – оптическая плотность
 п.о. – пар оснований (нуклеотидов)
 GnomAD – база данных с агрегированными сведениями о геномах
 HGMD – база данных аннотированных вариантов нуклеотидной последовательности
 HGVS – сайт общества по изучению вариаций генома человека
 LOVD – база данных открытых вариаций Лейдена
 SIFT – эволюционная консервативность

Просьба высылать отзывы на автореферат по адресу:

НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ

634050, г. Томск, ул. Набережная реки Ушайки, 10

Ученому секретарю диссертационного совета 24.1.215.03

д-р мед. наук Назаренко М.С.

e-mail: maria.nazarenko@medgenetics.ru