

## КЛИНИЧЕСКОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ ЭКЗОМА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННОЙ ПАТОЛОГИИ СКЕЛЕТА МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР «ГЕНОМЕД», МОСКВА

И.В.КАНИВЕЦ, Ф.А.КОНОВАЛОВ, С.А.КОРОСТЕЛЕВ, Н.А.БЕЛОВА, Ф.С.КАТАСОНОВ, Д.В.ПЬЯНКОВ, Д.Н.ХМЕЛЬКОВА



Наследственные заболевания скелета представляют собой генетически гетерогенную группу, состоящую из более чем 450 состояний, ассоциированных с мутациями в более чем 300 генах. Их точная диагностика вызвала затруднения вследствие генетической гетерогенности, низких частот встречаемости и полиморфизма клинических проявлений.

С целью определения эффективности секвенирования нового поколения (NGS) в диагностике генетически обусловленной патологии скелета нами было проведено обследование 93 пациентов с клиническим диагнозом: Несовершенный остеогенез. Всем пациентам было проведено исследование кодирующих последовательностей и экзон-интронных соединений 4813 генов на секвенаторе нового поколения Illumina NextSeq 500 с использованием набора TruSight One (Illumina). Обработка данных секвенирования проводилась с помощью автоматизированного алгоритма, а оценка клинической релевантности – с использованием баз данных. Решение о том, является ли обнаруженный вариант причиной заболевания, принималось на основании анализа медицинских документов и клинической картины, описанной у других пациентов с обнаруженным вариантом. По результатам исследования проводилась консультация врача-генетика.

В результате исследования причина заболевания была обнаружена у 80 пациентов (86%), варианты, воз-

можно являющиеся причиной заболевания, были обнаружены у 5 пациентов (5%) и у 8 пациентов (9%) причина заболевания не была обнаружена.

Высокая клиническая эффективность NGS в группе пациентов с направительным диагнозом «Несовершенный остеогенез» может быть объяснена особенностями клинических проявлений, что делает эти состояния легко распознаваемыми, и опытом направляющих врачей-генетиков, который позволяет избежать гипердиагностики. В результате работы был определен спектр генов, которые были включены в панель «Несовершенный остеогенез», что в перспективе позволит снизить стоимость обследования за счет сокращения числа анализируемых генов. Подобным образом могут быть созданы панели и для других наследственных заболеваний скелета.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Jameson, J. Larry Endocrinology: Adult and Pediatric, Seventh Edition. Chapter 65, P.1173-1183, 2016.
2. Superti-Furga A. et al. Molecular-Pathogenetic classification of Genetic Disorders of the Skeleton. Am J Med Genet (Semin. Med. Genet.) 106:282-293 (2001).
3. Daniel L. Polla et al. Use of Targeted Exome Sequencing for Molecular Diagnosis of Skeletal Disorders. PLoS One, 2015; 10(9): e0138314.

## ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ В КОСТНОЙ ТКАНИ

А.Г.НИКИТИН<sup>1</sup>, Ж.Е.БЕЛАЯ<sup>2</sup>, О.И.БРОВКИНА<sup>1</sup>, Т.А.ГРЕБЕННИКОВА<sup>2</sup>, Д.С.ХОДЫРЕВ<sup>1</sup>, П.М.ХАНДАЕВА<sup>2</sup>, Ф.А.КОШКИН<sup>1</sup>, Г.А.МЕЛЬНИЧЕНКО<sup>2</sup>

1 Федеральный научно-клинический центр ФМБА России  
2 «Эндокринологический научный центр» МЗ РФ



### ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение эпигенетических механизмов регуляции костного метаболизма и молекулярных основ развития костных осложнений в условиях гиперпродукции кортизола и соматотропина у человека.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование включало 44 пациента с неактивными (НАГ) и гормонально-активными аденомами гипофиза (болезнь Иценко-Кушинга и акромегалия – БИК и АМ), был произведен забор операционного материала (костная ткань из дна турецкого седла), который сразу же помещали в реагент QIAzol. Образцы костей гомогенизировали с помощью TissueLyser LT (Qiagen) и выделяли тотальную РНК с использованием набора реагентов miRNeasy Mini Kit (Qiagen) на автоматической станции для выделения нуклеиновых кислот QIAcube (Qiagen), анализируя полу-

ченную РНК на Bioanalyzer 2100 (Agilent). Анализ экспрессии РНК и микроРНК проводили с использованием реактивов High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit, Custom TaqMan Array 48 Plus Plates, TaqMan Advanced miRNA cDNA Synthesis Kit, TaqMan Fast Advanced Master Mix, TaqMan Advanced miRNA Assays (Thermo Fisher Scientific) на термоджеле StepOnePlus (Applied Biosystems).

Измерялась экспрессия 10 микроРНК и 48 генов (включая 4 гена «домашнего хозяйства»), продукты которых вовлечены в процессы костного ремоделирования.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

Сравнение профилей экспрессии 44 генов показало значительные различия между тремя группами – в группе БИК нарушен синтез коллагена (снижение экспрессии COL1A1 и COL1A2 в 10 раз), снижена экспрессия фосфатаз ACP5 и ALPL (в 5 и 3 раза соответственно) и осте-

окальцина (в 3 раза), повышен уровень экспрессии лептина (в 7 раз). В группе АМ более чем в 10 раз снижена экспрессия IL6 и лептина. В обеих группах нарушена регуляция канонического WNT-сигнального пути, уровни экспрессии как эффекторных молекул, так и агонистов/антагонистов повышены в 3-6 раз. Показано, что изменения уровней экспрессии микроРНК коррелируют с изменениями экспрессии их мишеней.

### ВЫВОДЫ

Полученные данные позволяют предположить наличие различных механизмов развития остеопороза в условиях гиперпродукции кортизола и соматотропина у человека. В первом случае костные осложнения могут быть обусловлены подавлением созревания и дифференцировки остеобластов при сохранении нормальной активности остеокластов, а в случае акромегалии, напротив, нормальный процесс синтеза костной ткани сопровождается увеличенной активностью остеокластов, что приводит к смещению равновесия в сторону резорбции.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Park-Min K.H. 2016. Epigenetic Regulation of Bone cells. *Connect. Tissue Res.*
2. Pike J.W., Meyer M.B., St John H.C., Benkusky N.A. 2015. Epigenetic histone modifications and master regulators

as determinants of context dependent nuclear receptor activity in bone cells. *Bone.* 81, 757–764.

3. Montecino M., Stein G., Stein J., Zaidi K., Aguilar R. 2015. Multiple levels of epigenetic control for bone biology and pathology. *Bone.* 81, 733–738.

4. Hassan M.Q., Tye C.E., Stein G.S., Lian J.B. 2015. Non-coding RNAs: Epigenetic regulators of bone development and homeostasis. *Bone.* 81, 746–756.

5. Gordon J.A.R., Stein J.L., Westendorf J.J., van Wijnen A.J. 2015. Chromatin modifiers and histone modifications in bone formation, regeneration, and therapeutic intervention for bone-related disease. *Bone.* 81, 739–745.

6. Gabay O., Clouse K.A. 2015. Epigenetics of cartilage diseases. *Joint Bone Spine.*

7. Vrtačnik P., Marc J., Ostanek B. 2013. Epigenetic mechanisms in bone. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.* 52, 589–608.

8. Maleszewska M., Kaminska B. 2013. Is Glioblastoma an Epigenetic Malignancy? *Cancers.* 5, 1120–1139.

9. Luna-Zurita L., Bruneau B.G. 2013. Chromatin modulators as facilitating factors in cellular reprogramming. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 23, 556–561.

10. Baron R., Kneissel M. 2013. WNT signaling in bone homeostasis and disease: from human mutations to treatments. *Nat. Med.* 19, 179–192.

11. Jaenisch R., Bird A. 2003. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat Genet.* 33, 245–254.

## ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ВЫДЕЛЕНИЯ ПОПУЛЯЦИИ ВЫСОКОГО РИСКА ПЕРЕЛОМОВ (FRAX®, ДЕНСИТОМЕТРИЯ)



Основная стратегия диагностики остеопороза (ОП) на ранних этапах направлена на выявление лиц, имеющих высокий риск будущего перелома.

С этой целью был предложен алгоритм оценки 10-летнего абсолютного риска переломов - FRAX®, основанный на оценке факторов риска, повышающих вероятность возникновения перелома. Российская модель FRAX® появилась в 2012 г., и пока не накоплены данные о ее прогностической ценности для клинической практики.

### ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить чувствительность и специфичность порога терапевтического вмешательства российской модели FRAX® и рентгеновской денситометрии (DXA) у женщин в возрасте 50 лет и старше.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На 224 женщины в возрасте 50 лет и старше (средний возраст  $62 \pm 7$  лет), обследованных в 2003-2004 гг. в Институте ревматологии и имевших на тот момент все необходимые данные, ретроспективно в 2013–2014 гг. заполнен вопросник FRAX® для определения 10-летнего абсолютного риска переломов. Риск основных остеопоротических переломов (ОП-переломов) оценивался в соответствии с порогом терапевтического вмешательства, предложенно-

О.А.НИКИТИНСКАЯ, Н.В.ТОРОПЦОВА, Н.В.ДЕМИН  
ФГБНУ НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой, Москва

го Российской ассоциацией по остеопорозу как без, так и с учетом минеральной плотности кости (МПК)[1], созданного в соответствии с европейскими рекомендациями по диагностике и ведению больных с постменопаузальным остеопорозом [2]. Диагноз ОП ставился по критериям ВОЗ при проведении DXA.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

На момент первичного обследования у 71(32%) женщины не было выявлено факторов риска, вносимых в вопросник FRAX®, переломы при минимальной травме в анамнезе имели 96 (43%) пациенток, ОП в позвоночнике и/или шейке бедра – 105 (47%), значения FRAX® без учета МПК выше порога терапевтического вмешательства – 70 (31%) человек. В соответствии с современными рекомендациями антиостеопоротическая терапия должна была быть рекомендована 146 (65%) пациентам. За 10-летний период переломы при минимальном уровне травмы произошли у 106 (47%) женщин, в том числе у 29 (37%) из 78 женщин, первоначально не имевших переломы, ОП и высокие показатели FRAX®. Из 128 пациенток без переломов в анамнезе переломы произошли у 46 (40%) человек.

Диагностическая чувствительность алгоритма FRAX® без учета МПК шейки бедра составила 41% (95%ДИ, 31-51), специфичность 77% (95% ДИ, 68-84) (AUC 0,66). При внесении данных МПК чувствительность FRAX® снизилась до 38% (95%ДИ, 29-48), а специфичность повы-