

# Молекулярно-генетическая диагностика болезней ЭКСПАНСИИ

Марникова Д.П., Гусина А.А.

Республиканский научно-практический центр “Мать и дитя”, Минск, Беларусь

# *Введение*

Болезни экспансии (БЭ) являются одной из наиболее частых причин наследственных неврологических заболеваний и представляют собой патологическое увеличение количества тандемных нуклеотидных последовательностей (ТНП) в нестабильных участках генома, приводящих к нарушению функции кодируемого белка и других протеинов. Широкая распространенность, а также высокий риск возникновения в семьях сотягощенным анамнезом и наличие мажорной мутации делают актуальной разработку и применение диагностических систем поиска динамических мутаций, ассоциированных с данной патологией.

## *Цель*

Целью нашего исследования была молекулярно-генетическая диагностика наследственных неврологических заболеваний с использованием трехпраймерной ПЦР.

# *Материалы и методы*

За период 2020-2022 гг. было обследовано 210 пациентов с болезнями экспансии в известных генах. ДНК было выделено из лейкоцитов венозной крови методом солевой экстракции.

Для диагностики экспансии ТНП использовалась двухэтапная система. Детекция мутаций производилась методом капиллярного элетрофореза на генетическом анализаторе ABI 3500. При выявлении одного короткого аллеля в гомозиготном состоянии проводилось исследование методом трехпраймерной ПЦР.

Диагностика БЭ в случаях спиноцеребеллярной атаксии (СЦА) 1,3,6,17 типов и дентато-рубро-паллидо-люисовой атрофии (ДРПЛА) производилась с использованием ПЦР-амплификации коротких фрагментов, в то время как для диагностики атаксии Фридрейха, СЦА 2 типа, бокового амиотрофического склероза (БАС) и миотонической дистрофии (МД) 1 и 2 типов использовалась трехпраймерная ПЦР.

# Результаты

В результате исследования увеличение количества ТНП было выявлено у пациентов с атаксией Фридрейха, СЦА 1 и 2 типов, БАС, МД 1 и 2 типов.

Таблица 1. Исследуемые нозологические формы.

Нозология	Количество обследованных пациентов	Количество пациентов с экспансией ТНП
Атаксия Фридрейха	59	1
СЦА 1,2,3,6,17 типов и ДРПЛА	55	2
БАС	33	4
МД 1 и 2 типа	63	14

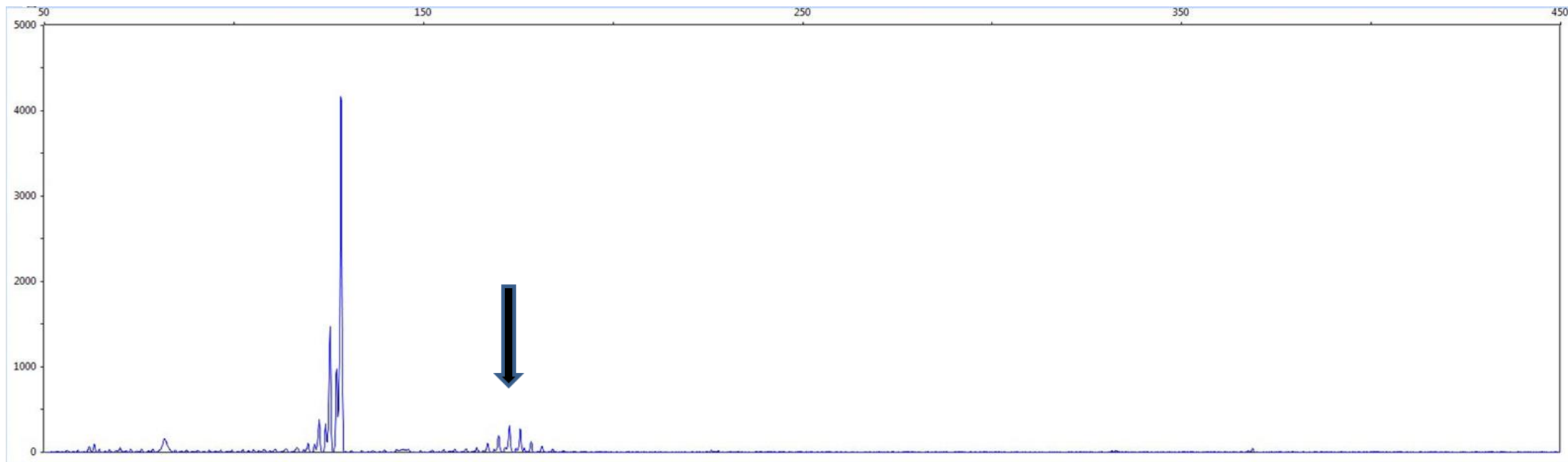


Рисунок 1. Диагностика СЦА 1 типа с использованием ПЦР-амплификации коротких фрагментов, где стрелкой указано патологическое число СAG повторов - 43.

Трехпраймерная ПЦР позволяет выявить нормальное количество повторов, экспансию в гетерозиготном и гомозиготном состоянии. Данный метод является качественным и не определяет абсолютное число повторов, однако достаточен для молекулярно-генетического подтверждения БЭ.

Электрофореграмма ПЦР продукта трехпраймерной ПЦР представляет собой паттерн сигналов, каждый пик из которых - это фрагмент ДНК с разным количеством повторов.



Рисунок 2. Детекция экспансии методом трехпраймерной ПЦР.

В образце 1 число GAA повторов гена FXN соответствует нормальному. В образце 2 выявлено патологическое увеличение числа GAA повторов в гене FXN .

# Заключение

Диагностика БЭ является сложной задачей ввиду гетерогенности и неспецифичности выявляемых признаков. Для обнаружения динамических мутаций при БЭ могут быть использованы следующие методы:

- ПЦР-амплификация коротких фрагментов
- Трехпраймерная ПЦР
- Саузерн-блотинг
- Секвенирование по Сенгеру
- NGS (секвенирование следующего поколения)

ПЦР-амплификация коротких фрагментов – быстрый и эффективный метод диагностики, но он не позволяет определить большие экспансии ТНП.

Трехпраймерная ПЦР - высокочувствительный и специфичный метод повышающий эффективность диагностики, но не определяет абсолютное число повторов.

Комбинирование ПЦР-амплификации коротких фрагментов и Трехпраймерной ПЦР позволяет оптимизировать финансовые и временные затраты связанные с диагностикой исследуемой патологии.