© Коллектив авторов, 2006

Н.В. Козырева[1], Л.М. Казакова[1], А.В. Шабалдин[2], Е.Н. Воронина[3]

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ МУТАЦИИ C282Y ГЕНА НАСЛЕДСТВЕННОГО ГЕМОХРОМАТОЗА У ДЕТЕЙ КЕМЕРОВСКОЙ ОБЛАСТИ

[1]Кемеровская государственная медицинская академия;
[2] Институт экологии человека СО РАН, г. Кемерово;
[3] Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск, РФ

Наследственный (первичный) гемохроматоз (НГХ) является заболеванием из группы наследственных болезней накопления и характеризуется нарушением обмена железа с патологически высоким депонированием элемента в жизненно важных органах. Впервые случаи заболевания описали M. Troisier, V. Hanot и A. Chauffard в конце XIX века, а генетическую природу гемохроматоза доказал M. Simon в 1972 г., обнаружив его тесную связь с антигенами гистосовместимости HLA [1, 2]. НГХ наследуется преимущественно по аутосомно-рецессивному типу и является достаточно распространенным заболеванием среди белого населения Европы и Северной Америки. По данным HLA-типирования, в среднем 3–5 человек из 1000 гомозиготны, а 10 из 100 – гетерозиготны по НГХ [3]. Впервые ген НГХ (HFE) идентифицировали в 1996 г. J.N. Feder и соавт. [4]. На сегодня известны 3 мутации этого гена. Чаще всего среди больных НГХ выявляется мутация C282Y. В этом случае происходит замена гуанина на аденин в 845-й позиции, и в результате 282-я аминокислота не цистеин, а тирозин. В литературе эту мутацию называют «кельтской мутацией», так как она ответственна за большинство случаев НГХ в Европе [5]. На севере Европы и в Америке C282Y ген HFE выявляется у более 90% больных первичным гемохроматозом [6]. Частота встречаемости этой мутации незначительно снижается (в среднем до 80%) по мере продвижения от севера к югу Европы [7]. Остальные две мутации – H63D (замена цитидина на гуанин в 187-й позиции, в белке HFE 63-я аминокислота – аспарагиновая кислота вместо гистидина) и S65C (замена аденина на тимидин в 193-м положении, 65-я аминокислота – цистеин вместо серина) встречаются гораздо реже у больных с клиникой гемохроматоза. Среди белого населения около 0,5% людей являются гомозиготами по главной мутации HFE гена C282Y и 13% – гетерозиготными носителями [8]. У европейцев мутация C282Y гена HFE встречается с частотой от 2,6% до 14%, мутация H63D – в пределах 10,0–30,4% и мутация S65C – в пределах 1,5–2,0% [9, 10].

Но не только мутации гена HFE несут ответственность за клинические случаи гемохроматоза. Выявлены мутации в неидентифицированном гене длинного плеча хромосомы 1 (ювенильный тип НГХ), в генах, ответственных за синтез белков – рецептора трансферрина 2-го типа, ферропортина, гепсидина, которые также участвуют в регуляции обмена железа [11, 12]. На сегодня в литературе описаны единичные случаи НГХ в результате данных мутаций [13–16].

В России первые генетические анализы на мутации гена HFE проведены в 2000 г. в Гематологическом научном центре РАМН (С.С. Зборовский и соавт.), которые определили 2 гомозиготы C282Y и 2 гетерозиготы C282Y у 35 пациентов с нарушением обмена железа и предполагаемым НГХ [17]. С.В. Михайлова и соавт. [18] выявили частоту основных мутаций гена HFE у русских жителей. Новосибирск и в некоторых этнических группах Западной и Восточной Сибири, представляющих монголоидную расу (алтайцы, тувинцы, чукчи), и финно-угорскую группу (манси, ханты, мордвины). Результаты исследования показали, что у русских частота мутаций C282Y, H63D, S65C составила 12,5%, 4% и 1,8% соответственно, что совпадает с показателями у европейцев. А у представителей монголоидной расы и у финно-угров мутация C282Y не выявлена, в противоположность варианту мутации H63D, который достаточно широко представлен в данных группах (встречается с частотой 0,001–0,085‰).

Благодаря генетическому тестированию по основным мутациям гена HFE возможна досимптоматическая диагностика наследственной патологии, а это означает своевременно начатую рациональную тактику лечения, которая не позволяет развиться клинико-лабораторной симптоматике заболевания.

Частота встречаемости мутаций гена HFE в Кузбассе до настоящего времени не определялась. И достаточно трудно предположить распространенность носителей мутантного гена, так как наш регион образовывался переселенцами из центральной России, ближнего зарубежья, Германии.

Целью нашего исследования было выявление распространенности C282Y гена HFE у детей Кемеровской области.

Использовали метод случайной выборки образцов венозной крови 240 детей Кемеровской области в возрасте от 4 мес до 16 лет. Диагностику мутации C282Y гена HFE проводили на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР). Тест-системы для молекулярно-генетического анализа полиморфизма HFE разработаны совместно с Институтом химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Выделение ДНК проводили с использованием фенол-хлороформной экстракции из лейкоцитов крови. Полиморфизм HFE связан с точковой заменой C282Y, которую можно детектировать

сайт-специфической рестрикцией ферментом RsaI. Предварительным этапом перед проведением полиморфизма длин рестрикционных фрагментов являлась амплификация специфического района 1-го интрона. Амплифицированные фрагменты ДНК были смешаны с ферментом RsaI. Продукты рестрикции анализировали в 6% полиакриламидном геле с последующей окраской бромистым этидием и визуализацией фрагментов в проходящем УФ-свете (см. рисунок).

В результате исследования C282Y ген HFE был выявлен у 14 детей, что составило 5,8% и совпало со средними показателями европейцев. Все выявленные носители мутантного гена HFE оказались гетерозиготами. Гомозиготность по дикому аллелю (отсутствие мутации) определяли по наличию на электрофореграммах фрагмента 167 нуклеотидных пар (н.п.). Гетерозиготность по мутации C282Y проявлялась двумя фрагментами – 167 н.п. и 138 н.п. (см. рисунок).

Таким образом частота гетерозиготного носительства C282Y гена HFE у детей Кемеровской области не отличается от результатов исследования на распространенность этой мутации в европейских странах. В дальнейшем наша работа будет направлена на исследование обмена железа у детей этой группы и оценку выявленных изменений.

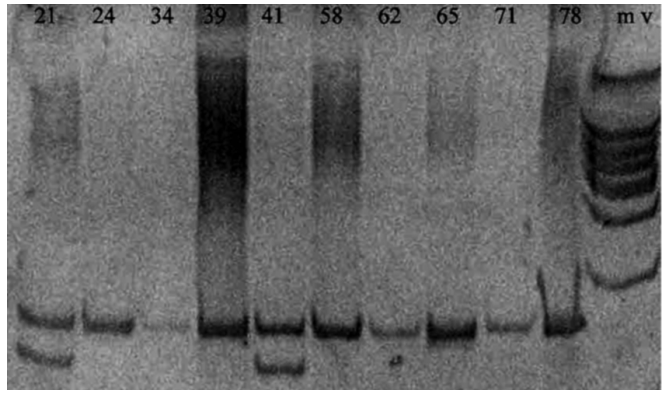

Рисунок. Электрофорез продуктов рестрикции гена HFE в 6% полиакриламидном геле.
Дорожки 21, 41 – гетерозиготы по мутации с 289 HFE; дорожки 24–39 – гомозиготы по дикому типу; дорожки 58–78 – гомозиготы по дикому типу; mv – молекулярный вес.

ЛИТЕРАТУРА

1. Руководство по гематологии. Под ред. А.И. Воробьева. М.: Ньюдиамед, 2005.
2. *Галенков П.Г.* Тер. архив. 1933; 11 (3): 218–222.
3. *Fairbanks V.F., Baldus W.P.* Mayo Clin. Proc. 1986; 61: 296.
4. *Feder J.N., Gnirke A., Thomas W. et al.* Nature Genet. 1996; 13: 399–408.
5. *Distante S., Robson K.J., Graham-Campbell J. et al.* Hum. Genet. 2004; 115 (4): 269–279.
6. *Kelleher T., Ryan E., Barrett S. et al.* Blood Cells Mol. Dis. 2004; 33 (1): 35–39.
7. *Bauduer F., Scribans C., Degioanni A. et al.* Ann. Hematol. 2005; 84 (2): 99–102.
8. *Bacon B. et al.* Gastroenterology. 1999; 116: 193.
9. *Merryweather-Clarke A.T., Pointon J.J., Jonanolle A.M. et al.* Genet. Testing. 2000; 4: 183–198.
10. *Merryweather-Clarke A.T., Pointon J.J., Shearman J.D. et al.* J. Med. Genet. 1997; 34: 275–278.
11. *Kawabata H., Yang R., Hirama T. et al.* J. Biol. Chem. 1999; 274: 20826–20832.
12. *Camaschella C., Roetto A., Cali A. et al.* Nature Genet. 2000; 25: 14–15.
13. *Le Gell J.Y., Jouanolle A.M., Fergelot P. et al.* Bull. Acad. Natl. Med. 2004; 188 (2): 247–262.
14. *Delatycki M.B., Allen K.J., Gow P. et al.* Clin. Genet. 2004; 65 (5): 378–383.
15. *Chan V., Wong M., Ooi C. et al.* Blood Cells Mol. Dis. 2003; 30 (1): 107–111.
16. *Licata A., Brucato V., Di Marco V. et al.* Ann. Ital. Med. Int. 2004; 19 (3): 145–154.
17. *Зборовский С.С., Мисюрин А.В., Щербинина С.П.* Гематол. и транфузиол. 2001; 46 (3): 64–65.
18. *Михайлова С.В., Кобзев В.Ф., Ромащенко А.Г. и др.* Рос. журнал гастроэнтер. гепатолог. колопроктол. 2001; 4: 13–16.

© *Коллектив авторов, 2007*

Д.Ю. Качанов[1,2], Т.В. Шаманская[1,2], К.В. Добреньков[2], С.Р. Варфоломеева[1,2]

МЕДИКО-ЧАСТОТНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ОПУХОЛЕЙ ПОЧЕК У ДЕТЕЙ МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ

[1] Московский областной онкологический диспансер, г. Балашиха;
[2] ФГУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии Росздрава, Москва

Злокачественные опухоли почек (ОП) являются частыми новообразования детского возраста. В структуре солидных опухолей экстракраниальной локализации ОП занимают 3-е место, уступая лишь злокачественным опухолям симпатической нервной системы и саркомам мягких тканей, и составляют около 6% от всех новообразований у детей [1, 2]. В Российской Федерации показатель заболеваемости ОП составляет 0,87 на 100 тыс детского населения [3]. Соотношение мальчиков и девочек составляет 0,9. Диагноз ОП в 77% случа-