

УДК 577

Е.С.Брилинская (4 курс, каф. БФ), В.В.Егоров, асп. (ГУ НИИЭМ РАМН)

ПОИСК МУТАЦИЙ В ЭКЗОНЕ 11 ГЕНА KAL1

Болезнь Кальмана – тяжелое заболевание, характеризующееся врожденным изолированным идиопатическим гипогонадотропным гипогонадизмом и аносмией. У мужчин с синдромом Кальмана обнаруживают аносмию как следствие недоразвития обонятельных долек и гипогонадизм, вторичный по отношению к дефициту GnRH. Женщины, несущие дефектный ген, имеют частичную или полную аносмию. У мужчин болезнь Кальмана встречается в среднем с частотой 1/10000, у женщин – с частотой 1/70000.

Ген KAL1, отвечающий за сцепленную с X-хромосомой форму болезни, кодирует белок аносмин, играющий ключевую роль в миграции гонадотропин-высвобождающего гормона (GnRH) и обонятельных нейронов в гипоталамус. Помимо X-сцепленной, существуют аутосомные – доминантная и рецессивная – формы заболевания. Фенотипические проявления трех форм болезни Кальмана весьма сходны, но связаны с дефектами на разных уровнях гормональной регуляции развития, и поэтому требуют различной терапии. Своевременная диагностика дефектов в гене KAL1 позволяет назначить носителю мутации гормональную терапию, направленную на улучшение его качества жизни.

Целью исследования являлся поиск мутаций и полиморфизмов в гене KAL1 у пациентов с синдромом Кальмана. Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

- создать коллекцию ДНК пациентов с синдромом Кальмана;
- получить продукт полимеразной цепной реакции (ПЦР – продукт) 11-го экзона гена KAL1 пациентов с синдромом Кальмана;
- провести поиск делеций 11-го экзона гена KAL1 в имеющейся коллекции ДНК;
- провести анализ конформационного полиморфизма одностранных структур (SSCP-анализ) полученных ПЦР-продуктов;
- на основании SSCP-анализа провести отбор проб для секвенирования.

Была выделена геномная ДНК 16 пациентов с фенотипическими проявлениями синдрома Кальмана. Все исследованные пациенты являлись пробандами мужского пола без хромосомных нарушений, то есть несли только по одной копии X-хромосомы. Фрагментацию и количество выделенной ДНК анализировали с помощью горизонтального электрофореза в агарозном геле с использованием стандартных маркеров. ПЦР с использованием всех образцов банка показала, что в исследуемой группе отсутствуют пациенты, несущие делецию 11 экзона, так как во всех пробах обнаруживался ПЦР-продукт соответствующей молекулярной массы. При проведении SSCP-анализа были обнаружены три пациента, ПЦР-продукты ДНК которых проявляли аномальную электрофоретическую подвижность. Всего наблюдалось три типа SSCP-паттернов: один соответствовал нормальной последовательности нуклеотидов ПЦР-продукта, второй встречался у двух пациентов, третий – у одного пациента.

Данные результаты позволяют предположить наличие изменений двух типов в нуклеотидной последовательности 11 экзона гена KAL1 трех пациентов с синдромом Кальмана. Окончательные выводы относительно роли этих изменений в развитии заболевания можно будет сделать только после секвенирования образцов, проявляющих аномальную электрофоретическую подвижность конформеров.