

А.Б. ЛИВШИЦ¹, С.А. КРАВЧЕНКО¹,
О.А. БЕРЕСТОВОЙ², В.М. ЗИНЧЕНКО³, Л.А. ЛИВШИЦ¹

¹ Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев

E-mail: livshits@imbg.org.ua

² Национальная медицинская академия
последипломного образования им. П.Л. Шупика, Киев

³ Клиника «Исида», Киев

АЛЛЕЛЬНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ОБЛАСТИ CGG-ПОВТОРОВ ГЕНА *FMR1* У ПАЦИЕНТОВ С НАРУШЕНИЕМ ПРИРОДНОЙ И ИНДУЦИРОВАННОЙ ОВУЛЯЦИИ



*В группе пациентов с дисфункцией яичников частота гетерозиготных носителей аллелей «зоны риска» гена *FMR1* (40–47 CGG-повторов) статистически достоверно превышала их частоту в контрольной группе I. В группе пациентов со «слабым ответом» на индукцию овуляции в циклах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) также наблюдалась тенденция к возрастанию частоты упомянутых аллелей. Среднее значение числа фолликулов и ооцитов, полученных после стимуляции суперовуляции у гетерозиготных носителей аллелей 40–47 CGG-повторов, было статистически достоверно меньше, чем у пациентов с нормальными аллелями гена *FMR1*. Общая средняя доза экзогенного гонадотропина, необходимая для стимуляции суперовуляции у гетерозиготных носителей таких аллелей, статистически достоверно превышала дозу, необходимую для стимуляции пациентов с нормальными генотипами. Следовательно, аллели «зоны риска» гена *FMR1* могут являться одним из факторов наследственной предрасположенности к нарушениям природной и стимулированной овуляции.*

© А.Б. ЛИВШИЦ, С.А. КРАВЧЕНКО, О.А. БЕРЕСТОВОЙ,
В.М. ЗИНЧЕНКО, Л.А. ЛИВШИЦ, 2010

Введение. Уже с 1991 г. развитие клинических признаков синдрома Мартина-Белла начали связывать с увеличением количества CGG-повторов в 5'-нетранслируемой области гена *FMR1* [1–4]. Синдром ломкой X-хромосомы (Мартина-Белла) является наиболее распространенной формой умственной отсталости человека и занимает второе место после синдрома Дауна среди заболеваний, связанных с умственной отсталостью [5]. Частота этого заболевания составляет приблизительно 1 на 1500 мальчиков и 1 на 2500 девочек [6].

В исследованиях Fu et al. [7] было показано, что количество тринуклеотидных CGG-повторов в 5'-нетранслируемой области гена *FMR1* является полиморфным в нормальной популяции человека и варьирует от 6 до 52 повторов. Но главное, выяснилось, что если аллель имеет больше 50 повторов, в последующих поколениях наблюдали нестабильность такого аллельного варианта [7].

Основные категории мутаций определяли исходя из количества CGG-повторов: 1) при полной мутации (более чем 200 копий) у больных с синдромом ломкой X-хромосомы (Мартина-Белла) выявляли множественную амплификацию CGG-повторов (более чем 200 копий); 2) при премутации указанная область варьирует от 50 до 199 CGG-единиц [8].

«Промежуточными», или аллелями «зоны риска», называют аллели, которые проявляют нестабильность при наследовании и за три поколения могут образовывать мутационный аллель. По данным некоторых авторов, их размер варьирует от 41 до 60 CGG-повторов [8]. Другие исследователи считают, что нестабильным является уже аллель, который содержит 40 или даже 39 CGG-повторов [9–11].

В настоящее время известно, что приблизительно у 20 % женщин – носителей «премутации» происходит преждевременное истощение яичников (ПИЯ), которое характеризуется завершением менструального периода в возрасте до 40 лет [10]. Интересно отметить, что по результатам проведенных исследований носители «полной» мутации имеют такой же риск развития ПИЯ (1 %), как и женщины, которые не имеют даже «премутации» (т.е. аллели нормальных размеров). Результаты исследований, проведенных за последнее время, свидетельствуют о том, что у носителей «премутации» зафиксирован широкий спектр проявлений на-

рушения функции яичников, среди которых ПИЯ является наиболее тяжелым [12, 13].

Кроме того, установлено, что даже те носители «премутации», у которых цикл не прекращался, имели более высокий уровень ФСГ по сравнению с носителями «полной» мутации или носителями «нормальных» аллелей, что является индикатором снижения потенциала функции яичников (резерва яичников) [14, 15]. В широкомасштабном исследовании была подтверждена статистически достоверная ассоциация между увеличением количества копий CGG-повторов гена *FMR1* и риском развития нарушений функции яичников, показатели которых выходят на плато и даже уменьшаются в области «премутации» (при этом размер CGG-аллеля составляет не менее 100 повторов) [16].

В проведенных нами пилотных исследованиях было показано, что не только аллели с «премутацией», но и «промежуточные» аллели, или так называемые аллели «зоны риска», содержащие не менее 40 CGG-повторов, могут быть фактором наследственной предрасположенности к ПИЯ и маркерами «плохого ответа» на стимуляцию суперовуляции экзогенным гонадотропином в циклах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) [17]. В то же время аллели с «премутацией» и аллели «зоны риска» встречаются в популяции Украины у женщин с нормальным резервом яичников [18].

Целью нашего исследования было изучение аллельного полиморфизма в области CGG-повторов гена *FMR1* у пациентов с нарушением естественной и стимулированной овуляции — у женщин с ПИЯ и так называемых «плохих ответчиков», а также анализ ассоциации аллелей «зоны риска» с показателями индуцированной овуляции.

Материалы и методы. Материалом для исследования были образцы крови женщин с дисфункцией яичников, женщин с так называемым «плохим ответом» и так называемым «хорошим ответом» на экзогенную стимуляцию суперовуляции в циклах ЭКО, женщин — доноров яйцеклеток (контрольная группа I) и женщин, которые родили ребенка, зачатого природным способом ($n = 63$) после 35 лет (контрольная группа II). Образцы крови для исследований были взяты с информированного согласия пациентов.

В группу женщин — доноров яйцеклеток (контрольная группа I) входили фертильные женщины Украины, которые родили до 35 лет ребенка, зачатого природным способом ($n = 130$). Эта группа является репрезентативной для оценки популяционной частоты мутаций в аутосомных генах. В группу женщин с дисфункцией яичников ($n = 102$) входили женщины репродуктивного возраста до 40 лет, у которых наблюдали остановку менструального цикла более 6 мес, а также увеличенный уровень ФСГ в сыворотке (более 9,6 ед. акт./л). Все пациентки указанной группы имели нормальный кариотип — 46 XX. Группу «плохих ответчиков» ($n = 39$) составляли женщины репродуктивного возраста до 40 лет, которые имели слабый ответ (до 4 яйцеклеток) на стимуляцию суперовуляции экзогенным гонадотропином в циклах ЭКО в ответ на дневную дозу 225–300 ед. акт. В группу не были включены пациенты, которым проводилось хирургическое вмешательство при лечении маточных труб, яичников, пораженных эндометриозом и кистами. В группу женщин «хороших ответчиков» ($n = 40$) входили женщины репродуктивного возраста до 40 лет, которые имели 10 и более яйцеклеток после стимуляции экзогенным гонадотропином в циклах ЭКО при дневной дозе гонадотропина 125–250 ед. акт.

Выделение и очистку препаратов ДНК из лейкоцитов периферической крови проводили с помощью стандартного метода [19].

Для идентификации количества CGG-повторов в гене *FMR1* использовали метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с Су-5 мечеными олигонуклеотидными праймерами с последующей визуализацией продуктов ПЦР на автоматическом лазерном флюориметре ALF-express [17, 18].

Для оценки соответствия распределения данных нулевой гипотезе использовали критерий Фишера (Fisher's exact test), который рассчитывали с помощью программного пакета «GENEPOP» [20], и критерий Стьюдента, который рассчитывали с использованием программного пакета «SYSTAT» [21].

Результаты исследований и их обсуждение. По результатам исследований, проведенных во всех анализируемых группах, было установлено, что размеры продуктов ПЦР области CGG-

повторов гена *FMR1* варьировали от 130 до 221 п.н., что соответствовало 17–47 CGG-копиям. В группе пациентов с дисфункцией яичников частота гетерозиготных носителей аллелей «зоны риска» (40–47 CGG-повторов) составила 9,4 % и превышала частоту упомянутых аллелей в контрольных группах I (3,1 %) и II (6,4 %) (рисунок). Различия по этому показателю между группой пациентов с дисфункцией яичников и контрольной группой I были статистически достоверны ($p < 0,05$). Следует отметить, что аллели «зоны риска» в популяции Украины встречаются с частотой, которая не превышает 1,55 %. Важно также, что аллели, размер которых отсчитывается от так называемой «промежуточной», или «серой» зоны, также являются редкими и в других популяциях мира, где они встречаются с частотой от 5 до 9 % [22–26].

Полученные в наших исследованиях результаты по распределению аллелей «зоны риска» в группе пациентов с дисфункцией яичников совпадают как с данными Bretherick et al. [26], так и с данными Vodega et al. [27], полученными для группы пациентов с ПИЯ. Наши исследования также согласовываются с данными Sullivan et al. [9], которые установили, что носители аллелей, входящих в так называемую «серую» зону или «зону риска», имеют увеличенный риск развития ПИЯ, а размер аллелей коррелирует с возрастом начала менопаузы [9].

Таким образом, можно сделать вывод, что гетерозиготное носительство аллелей «зоны риска» гена *FMR1* является фактором риска развития дисфункции яичников.

Установлено также, что в группе женщин «плохих ответчиков» (рисунок) наблюдалась тенденция к увеличению частоты (10,3 %) распространения аллелей «зоны риска» гена *FMR1* (40–47 CGG-повторов) как по сравнению с группой «хороших ответчиков» (2,5 %), так и в контрольных группах I (3,1 %) и II (6,4 %) (рисунок).

Важно отметить, что среднее значение числа фолликулов и ооцитов, полученных после стимуляции овуляции у гетерозиготных носителей аллелей «зоны риска» гена *FMR1* ($4,5 \pm 1,1$ и $2,9 \pm 0,8$ соответственно), было статистически достоверно меньше ($t_{st} = 2,015$ и $t_{st} = 2,097$, $p < 0,05$), чем у пациентов с нормаль-

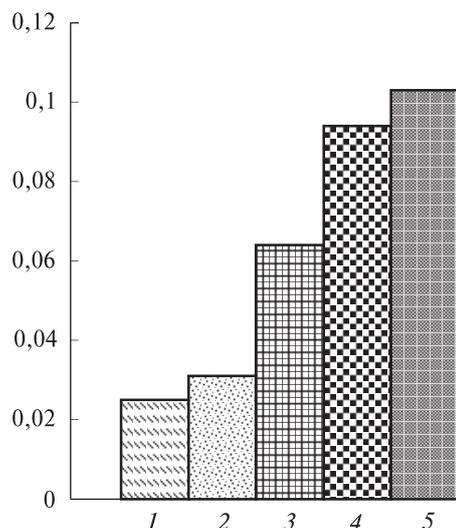


Диаграмма распределения частот аллелей (по вертикали) «зоны риска» (40–47 CGG-повторов) гена *FMR1* среди исследуемых групп: 1 – группа женщин «хороших ответчиков»; 2 – контрольная группа I; 3 – контрольная группа II; 4 – группа женщин с дисфункцией яичников; 5 – группа женщин «плохих ответчиков»

ными аллелями гена *FMR1* ($13,8 \pm 1,5$ и $9,6 \pm 1,0$ соответственно). Необходимо отметить также, что общая средняя доза экзогенного гонадотропина, необходимая для стимуляции суперовуляции у гетерозиготных носителей аллелей «зоны риска» гена *FMR1* (4387 ± 222 ед. акт.), была статистически достоверно выше ($t_{st} = 7,063$, $p < 0,001$), чем необходимая для стимуляции женщин с генотипами, в состав которых входят только нормальные аллели гена *FMR1* (2269 ± 97 ед. акт.).

Ранее нами зафиксировано статистически достоверное увеличение частоты носителей аллелей «зоны риска» гена *FMR1* в группе женщин с дисфункцией яичников по сравнению с контрольной группой I.

Основываясь на полученных нами данных и данных других авторов [9, 26, 27], можно сделать вывод о том, что аллельные варианты гена *FMR1* с увеличенным количеством CGG-повторов (аллели «зоны риска» и «премутации») являются генетическими факторами предрасположенности к ПИЯ и одной из причин снижения резерва яичников.

Установлено, что избыток мРНК с увеличенным уровнем CGG-повторов приводит к инактивации комплекса РНК–белки в клет-

ках мозга мыши [28, 29]. Кроме того, показано, что экспансированный CGG-повтор приводит к дегенерации нервных клеток у дрозофилы [30]. Подобный механизм может существовать и в случае ПИЯ, когда аномальные комплексы РНК и белка приводят к преждевременной дегенерации фолликул. При экспансированных CGG-областях увеличение уровня мРНК *FMR1* может также приводить к образованию избыточного количества комплексов транскриптов с белками. Избыток РНК-связанных белков может замедлять и изменять экспрессию FMRP белка [31]. В то же время избыток *FMR1* транскриптов с аллелей, имеющих большое количество CGG-повторов, может действовать как замедлитель связывания белков и препятствовать РНК-связыванию факторов, которые необходимы для трансляции других белков, участвующих в нормальном функционировании яичника [31].

В наших работах, а также в работах других исследователей были получены данные о том, что у носителей нестабильных премутационных аллелей зафиксировано соматическое разнообразие лейкоцитов, в которых содержатся аллели с разным количеством CGG-повторов [32, 33]. Упомянутые исследования являются аргументом в пользу допущения о том, что женщины с аллелями, которые входят в «зону риска», могут быть соматическими мозаиками не только в лейкоцитах, но и других тканях и, в частности, в яичниках. Таким образом, в клетках яичника пациентов, имевших в лейкоцитах аллели «зоны риска», могут образовываться (более экспансированные) премутантные аллели. При этом решающую роль в таких процессах может сыграть состав нуклеотидной последовательности области CGG-повторов. В многочисленных исследованиях было показано, что наличие AGG-вставок в области CGG-повторов может иметь важное диагностическое значение. Если количество CGG-повторов попадает в «зону риска» (35–50 повторов), то их стабильность строго зависит от количества прерывающих AGG-повторов. Полученные Zhong et al. [34] результаты свидетельствуют в пользу гипотезы о том, что потеря AGG-триплета в 5'-нестабильном регионе дестабилизирует CGG-область и приводит к ее стремительной экспансии. Таким образом, можно предположить, что наличие AGG-вставок су-

щественно снижает вероятность соматического мозаицизма.

На сегодняшний день еще не до конца известны молекулярные механизмы вовлечения гена *FMR1* и его белкового продукта FMRP в эти процессы. В экспериментах, проведенных на клеточных линиях, было показано, что при увеличении длины CGG-повторов 5'-UTR области гена *FMR1* зафиксирован увеличенный уровень мРНК, транскрибируемой с репортерного гена люциферазы. При этом наблюдали снижение уровня трансляции соответствующего белка [35]. Вместе с тем было показано, что стабильность шпильчатой структуры транскриптов, образованных непрерываемыми («чистыми») CGG-повторами, возрастает при увеличении длины повторяющейся последовательности. Таким образом, можно предположить, что различные аллельные варианты 5'-нетранслируемой области гена *FMR1* могут по-разному реализовываться на фенотипическом уровне. Napierala et al. [36] высказали предположение, что не только длина CGG-области гена *FMR1*, но и наличие AGG-вставок в упомянутой последовательности может определять вторичную структуру *FMR1* мРНК, что, в свою очередь, будет определять фенотипические признаки у носителей разных аллельных вариантов [36]. Первые свидетельства в пользу этого предположения были получены в работах Vodega et al. [27], однако эта гипотеза требует дальнейшего экспериментального подтверждения.

Выводы. Результаты наших исследований свидетельствуют о том, что аллели «зоны риска» гена *FMR1* (40–47 CGG-повторов) являются фактором наследственной предрасположенности к нарушениям природной и стимулированной овуляции. При этом полиморфные варианты с разным количеством CGG-повторов гена *FMR1* могут быть использованы в качестве маркеров для прогноза риска развития преждевременного истощения яичников, а также «слабого ответа» на индукцию овуляции экзогенным гонадотропином. В последующих исследованиях планируется провести анализ нуклеотидной последовательности экспансированных CGG-аллелей на наличие AGG-вставок как в группах пациентов со сниженным резервом яичников, так и в контрольных группах. Это позволит прояснить ассоциацию

структурних особливостей з формуванням фенотипа дисфункції яєчників.

Автори благодарно співпрацювали з клінікою «Исида», а також Інституту генетики і репродукції (г. Київ) за надання зразків крові і клінічної інформації.

*G. Livshyts, S. Kravchenko, O. Berestoviy,
V. Zinchenko, L. Livshits*

ALLELIC POLYMORPHISM OF *FMR1* GENE
CGG-REPEAT REGION IN PATIENTS
WITH IMPAIRMENT OF NATURE
AND STIMULATED OVULATION

The frequency of heterozygote carriers of «risk zone» alleles of *FMR1* gene (40–47 CGG-repeats) was significantly higher in group of patients with ovarian dysfunction than in control group I. The tendency for higher frequency of those alleles was observed in patients with «poor response» to superovulation induction in IVF cycles. The average number of oocytes and follicles, which was obtained after stimulation of superovulation, was significantly decreased in *FMR1* gene «risk zone» alleles carriers compared to patients with normal alleles of *FMR1* gene. The average general dosage of exogenous gonadotrophin, necessary for superovulation induction was significantly higher in heterozygote carriers of *FMR1* gene «risk zone» alleles than in patients with normal genotype. Thereby, the *FMR1* gene «risk zone» alleles can be one of the hereditary susceptibility factors of impairment nature and stimulated ovulation.

*Г.Б. Лівшиць, С.А. Кравченко, О.О. Берестовий,
В.М. Зінченко, Л.А. Лівшиць*

АЛЕЛЬНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ДІЛЯНКИ
CGG-ПОВТОРІВ ГЕНА *FMR1* У ПАЦІЄНТІВ
З ПОРУШЕННЯМ ПРИРОДНОЇ
ТА СТИМУЛЬОВАНОЇ ОВУЛЯЦІЇ

В групі пацієнтів з дисфункцією яєчників частота гетерозиготних носіїв алелів «зони ризику» гена *FMR1* (40–47 CGG-повторів) статистично вірогідно переважала їх частоту в контрольній групі I. Серед пацієнтів зі «слабкою відповіддю» на індукцію суперовуляції в циклах екстракорпорального запліднення також спостерігалась тенденція до підвищення частоти даних алелів. Середні значення фолікулів та ооцитів, отриманих після стимуляції суперовуляції у гетерозиготних носіїв за даними алелями, статистично вірогідно нижче, ніж у пацієнтів з нормальними алелями гена *FMR1*. Загальна середня доза екзогенного гонадотропіну, необхідна для стимуляції суперовуляції у гетерозиготних носіїв алелів «зони ризику» гена *FMR1*, статистично вірогідно перевищувала дозу, необхідну для пацієнтів з нормальними генотипами. Таким чином, алелі «зони ризику» гена *FMR1* є одним з факторів

спадкової схильності до порушень природної та стимульованої овуляції.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Kremer E.G., Pritchard M., Lynch et al.* Mapping of DNA instability at the fragile X to a trinucleotide repeat sequence p (CGG)_n // *Science*. – 1991. – **252**, № 5013. – P. 1711–1714.
2. *Verkerk A.J., Pieretti M., Sutcliffe J.S. et al.* Identification of a gene (FMR-1) containing a CGG repeat coincident with a breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome // *Cell*. – 1991. – **65**, № 5. – P. 905–914.
3. *Yu S., Pritchard M., Kremer E. et al.* Fragile X genotype characterized by an unstable region of DNA // *Science*. – 1991. – **252**, № 5009. – P. 1179–1181.
4. *Oberle I., Rousseau F., Heitz D. et al.* Instability of a 550-base pair DNA segment and abnormal methylation in fragile X syndrome // *Science*. – 1991. – **252**, № 5009. – P. 1097–1102.
5. *McKusick V.A., Francomano C.A., Antonarakis S.E.* Mendelian inheritance in man : Catalogs of autosomal dominant, autosomal recessive, and X-linked phenotypes. – Baltimore : Johns Hopkins Univ. press, 1994. – P. 2452–2461.
6. *Webb T.P., Bunday S.E., Thake A.I., Todd J.* Population incidence and segregation ratios in the Martin-Bell syndrome // *Amer. J. Med. Genet.* – 1986. – **23**, № 1/2. – P. 573–580.
7. *Fu Y.H., Kuhl D.P., Pizzuti A. et al.* Variation of the CGG-repeat at the fragile X site results in genetic instability: resolution of the Sherman paradox // *Cell*. – 1991. – **67**, № 6. – P. 1047–1058.
8. *Nolin S.L., Brown W.T., Glicksman A. et al.* Expansion of the fragile X CGG repeat in females with premutation or intermediate alleles // *Amer. J. Hum. Genet.* – 2003. – **72**, № 2. – P. 454–464.
9. *Sullivan A.K., Marcus M., Epstein M.P. et al.* Association of FMR1 repeat size with ovarian dysfunction // *Hum. Reprod.* – 2005. – **20**, № 2. – P. 402–412.
10. *Eichler E.E., Holden J.J., Popovich B.W. et al.* Length of uninterrupted CGG repeats determines instability in the FMR1 gene // *Nat. Genet.* – 1994. – **8**, № 1. – P. 88–94.
11. *Ashley-Koch A.E., Robinson H., Glicksman A.E. et al.* Examination of factors associated with instability of the FMR1 CGG repeat // *Amer. J. Hum. Genet.* – 1998. – **63**, № 3. – P. 776–785.
12. *Sherman S.L.* Premature ovarian failure in the fragile X syndrome // *Amer. J. Med. Genet.* – 2000. – **97**, № 3. – P. 189–194.
13. *Hundscheid R.D., Sidermans E.A., Thomas C.M. et al.* Imprinting effect in premature ovarian failure confined to paternally inherited fragile X permutations // *Amer. J. Hum. Genet.* – 2000. – **66**, № 2. – P. 413–418.

14. Murray A., Ennis S., MacSwiney F. et al. Reproductive and menstrual history of females with fragile X expansions // *Eur. J. Hum. Genet.* – 2000. – **8**, № 4. – P. 247–252.
15. Murray A., Webb J., MacSwiney F. et al. Serum concentrations of follicle stimulating hormone may predict premature ovarian failure in FRAXA premutation women // *Hum. Reprod.* – 1999. – **14**, № 5. – P. 1217–1218.
16. Mallolas J., Duran M., Sánchez A. et al. Implications of the FMR1 gene in menopause: study of 147 Spanish women // *Menopause.* – 2001. – **8**, № 2. – P. 106–110.
17. Лившиц Г.Б., Кравченко С.А., Татарський П.Ф. та ін. Молекулярно-генетичні дослідження порушень природної та стимульованої овуляції // *Цитология и генетика.* – 2008. – **42**, № 2. – С. 63–69.
18. Лившиц Г.Б., Кравченко С.А., Грищенко Н.В., Судомка І.А. Використання методів ДНК-аналізу для діагностики спадкових форм виснаження яєчників // *Цитология и генетика.* – 2005. – **39**, № 2. – С. 60–64.
19. Маниатис Т., Фрич Е.Е., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование. – М.: Мир, 1984. – 480 с.
20. Raymond M., Rousset F. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism // *J. Hered.* – 1995. – **86**, № 3. – P. 248–249.
21. Wilkinson L. Systat, the system for statistics // *Systat Evanston.* – New York: Univ. press, 1985. – P. 111.
22. Dawson A.J., Chodirker B.N., Chudley A.E. Frequency of FMR1 premutations in a consecutive newborn population by PCR screening of Guthrie blood spots // *Biochem. Mol. Med.* – 1995. – **56**, № 1. – P. 63–69.
23. Larsen L.A., Grønskov K., Nørgaard-Pedersen B. et al. High-throughput analysis of fragile X (CGG)_n alleles in the normal and premutation range by PCR amplification and automated capillary electrophoresis // *Hum. Genet.* – 1997. – **100**, № 5/6. – P. 564–568.
24. Snow K., Doud L.K., Hagerman R. et al. Analysis of a CGG sequence at the FMR1 locus in fragile X families and the general population // *Amer. J. Hum. Genet.* – 1993. – **53**, № 6. – P. 1217–1228.
25. Patsalis P.C., Sismani C., Hettinger J.A. Frequencies of «grey zone» and premutation size FMR1 CGG-repeat alleles in patients with developmental disability in Cyprus and Canada // *Amer. J. Med. Genet.* – 1999. – **84**, № 3. – P. 195–197.
26. Bretherick K.L., Fluker M.R., Robinson W.P. FMR1 repeat sizes in the gray zone and high end of the normal range are associated with premature ovarian failure // *Hum. Genet.* – 2005. – **117**, № 4. – P. 376–382.
27. Bodega B., Bione S., Dalpra L. Influence of intermediate and uninterrupted FMR1 CGG expansions in premature ovarian failure manifestation // *Hum. Reprod.* – 2006. – **21**, № 4. – P. 952–957.
28. Willemsen R., Hoogeveen-Westerveld M., Ries S. The FMR1 CGG repeat mouse displays ubiquitinpositive intranuclear neuronal inclusions; implications for the cerebellar tremor/ataxia syndrome // *Hum. Mol. Genet.* – 2003. – **12**, № 9. – P. 949–959.
29. Tassone F., Iwahashi C., Hagerman P.J. FMR1 RNA within the intranuclear inclusions of fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS) // *RNA Biol.* – 2004. – **1**, № 2. – P. 103–105.
30. Jin P., Zarnescu D.C., Zhang F. RNA-mediated neurodegeneration caused by the fragile X premutation rCGG repeats in *Drosophila* // *Neuron.* – 2003. – **39**, № 5. – P. 739–747.
31. Hagerman P.J., Hagerman R.J. The fragile X premutation: a maturing perspective // *Amer. J. Hum. Genet.* – 2004. – **74**, № 5. – P. 805–816.
32. Малярчук С.Г., Бычкова А.М., Лу Ш., Вертелецкий В., Лившиц Л.А. Случай спонтанной делеции в гене FMR1 у больного с синдромом Мартина-Белла // *Цитология и генетика.* – 1997. – **31**, № 1. – С. 54–58.
33. Brown W.T., Gross A., Chan C. et al. Multilocus analysis of the fragile X syndrome // *Hum. Genet.* – 1988. – **78**, № 3. – P. 201–205.
34. Zhong N., Yang W., Dobkin C., Brown W.T. Fragile X gene instability: anchoring AGGs and linked microsatellites // *Amer. J. Hum. Genet.* – 1995. – **57**, № 2. – P. 351–361.
35. Chen L.S., Tassone F., Sahota P., Hagerman P.J. The (CGG)_n repeat element within the 5'-untranslated region of the FMR1 message provides both positive and negative cis effects on *in vivo* translation of a downstream reporter // *Hum. Mol. Genet.* – 2003. – **12**, № 23. – P. 3067–3074.
36. Napierala M., Michalowski D., de Mezer M., Krzyzosiak W.J. Facile FMR1 mRNA structure regulation by interruptions in CGG repeats // *Nucl. Acids Res.* – 2005. – **33**, № 2. – P. 451–463.

Поступила 16.03.10