

СОДЕРЖАНИЕ

Том 58, номер 10, 2022

В данном номере публикуются статьи по материалам XIII научной конференции “Генетика человека и патология”, посвященной 40-летию Научно-исследовательского института медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН

Обзорные и теоретические статьи

“Менделевский код” в генетической структуре широко распространенных многофакторных заболеваний

М. С. Назаренко, А. А. Слепцов, В. П. Пузырев 1101

Межлокусные взаимодействия CNV в вариабельности фенотипов нарушений развития нервной системы

Е. О. Беляева, И. Н. Лебедев 1112

Плейотропные эффекты CNV в геноме человека

А. А. Кашеварова, Г. В. Дроздов, Д. А. Федотов, И. Н. Лебедев 1124

X-сцепленные CNV в патогенетике интеллектуальных расстройств

Е. Н. Толмачева, Е. А. Фонова, И. Н. Лебедев 1138

Роль сплайсинга в патогенезе моногенных болезней

Н. А. Скрябин, Д. И. Жигалина, В. А. Степанов 1155

Клинико-генетические особенности врожденного синдрома удлиненного интервала QT

А. Е. Постригань, Н. П. Бабушкина, Л. И. Свицова, И. В. Плотникова, Н. А. Скрябин 1164

Генетика человека

Генетическая взаимосвязь чулымских тюрков с хакасами и кетами по данным аутосомных SNP и гаплогруппам Y-хромосомы

Л. В. Валихова, В. Н. Харьков, А. А. Зарубин, Н. А. Колесников, М. Г. Сваровская, И. Ю. Хитринская, О. В. Штыгашева, В. Г. Волков, В. А. Степанов 1177

ADAMTS1 дифференциально экспрессируется в лимфоцитах индивидов с различным уровнем эндогенных фокусов γ H2AX и частотой радиационно-индуцированных микроядер

С. А. Васильев, Р. Р. Савченко, А. А. Беленко, Н. А. Скрябин, А. А. Слепцов, В. С. Фишман, А. А. Мурашкина, О. В. Грибова, Ж. А. Старцева, Е. С. Сухих, А. В. Вертинский, Л. Г. Сухих, О. Л. Серов, И. Н. Лебедев 1185

Генетическая структура подверженности коморбидности сердечно-сосудистого континуума

И. А. Гончарова, Ю. А. Королева, А. А. Слепцов, Т. В. Печерина, В. В. Капталан, В. П. Пузырев, М. С. Назаренко 1197

Ландшафт альтернативного сплайсинга в децидуальных клетках плаценты при физиологической беременности

Е. А. Трифонова, М. М. Гавриленко, А. А. Бабовская, А. А. Зарубин, М. Г. Сваровская, Е. В. Ижойкина, И. А. Степанов, В. Н. Сереброва, И. Г. Куценко, В. А. Степанов 1210

Contents

Vol. 58, No. 10, 2022

This issue publishes research presented at the XIII scientific conference “Human Genetics and Pathology”, dedicated to the 40th anniversary of the Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences

Reviews and Theoretical Articles

| | |
|---|------|
| “Mendelian Code” in the Genetic Structure of Complex Diseases <i>M. S. Nazarenko, A. A. Sleptcov, and V. P. Puzyrev</i> | 1101 |
| Interloci CNV Interactions in Variability of the Neurodevelopmental Disorders Phenotypes <i>E. O. Belyaeva and I. N. Lebedev</i> | 1112 |
| Pleiotropy of Copy Number Variation in Human Genome <i>A. A. Kashevarova, G. V. Drozdov, D. A. Fedotov, I. N. Lebedev</i> | 1124 |
| X-Linked CNV in Pathogenetics of Intellectual Disabilities <i>E. N. Tolmacheva, E. A. Fonova, and I. N. Lebedev</i> | 1138 |
| The Role of Splicing in the Pathogenesis of Monogenic Diseases <i>N. A. Skryabin, D. I. Zhigalina, and V. A. Stepanov</i> | 1155 |
| Clinical and Genetic Features of Congenital Long QT Syndrome <i>A. E. Postrigan, N. P. Babushkina, L. I. Svintsova, I. V. Plotnikova, and N. A. Skryabin</i> | 1164 |

Human Genetics

| | |
|--|------|
| Genetic Interrelation of the Chulym Turks with Khakass and Kets according to Autosomal SNP Data and Y-Chromosome Haplogroups <i>L. V. Valikhova, V. N. Kharkov, A. A. Zarubin, N. A. Kolesnikov, M. F. Сваровская, I. Yu. Khitrinskaya, O. V. Shtygasheva, V. G. Volkov, and V. A. Stepanov</i> | 1177 |
| ADAMTS1 Is Differentially Expressed in Human Lymphocytes with Various Frequencies of Endogenous γ H2AX Foci and Radiation-Induced Micronuclei <i>S. A. Vasilyev, R. R. Savchenko, A. A. Belenko, N. A. Skryabin, A. A. Sleptsov, V. S. Fishman, A. A. Murashkina, O. V. Gribova, Z. A. Startseva, E. S. Sukhikh, A. V. Vertinskiy, L. G. Sukhikh, O. L. Serov, and I. N. Lebedev</i> | 1185 |
| Genetic Structure of Susceptibility to Cardiovascular Continuum Comorbidity <i>I. A. Goncharova, I. A. Koroleva, A. A. Sleptcov, T. V. Pecherina, V. V. Kashtalap, V. P. Puzyrev, and M. S. Nazarenko</i> | 1197 |
| Alternative Splicing Landscape of Placental Decidual Cells during Physiological Pregnancy <i>E. A. Trifonova, M. M. Gavrilenko, A. A. Babovskaya, A. A. Zarubin, M. G. Svarovskaya, E. V. Izhoynkina, I. A. Stepanov, V. N. Serebrova, I. G. Kutsenko, and V. A. Stepanov</i> | 1210 |

ОБЗОРНЫЕ
И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СТАТЬИ

УДК 575.21/.22:616-092

“МЕНДЕЛЕВСКИЙ КОД” В ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЕ ШИРОКО
РАСПРОСТРАНЕННЫХ МНОГОФАКТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ© 2022 г. М. С. Назаренко¹, *, А. А. Слепцов¹, В. П. Пузырев¹¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук, Томск, 634050 Россия

*e-mail: maria.nazarenko@medgenetics.ru

Поступила в редакцию 04.04.2022 г.

После доработки 06.05.2022 г.

Принята к публикации 18.05.2022 г.

Феномен коморбидности между моногенными и многофакторными заболеваниями предполагает участие определенного общего числа генов и биологических путей в формировании предрасположенности к заболеваниям – “менделевский код”, который связывает каждое многофакторное заболевание с уникальной совокупностью менделевских локусов. В рамках “омнигенной” модели многофакторных заболеваний гены менделевских болезней могут представлять собой “коровые” гены, которые функционируют в клетках органов-мишеней патологии и участвуют в их патогенезе. Менделевские болезни можно использовать в качестве отправной точки для приоритизации локусов/генов, имеющих отношение к сложным признакам и заболеваниям. Этот подход был применен в данном обзоре на примере приоритизации генов в локусах, связанных с гипертрофической и дилатационной кардиомиопатиями в результате широкогеномных ассоциативных исследований. Функциональная характеристика генов менделевских болезней в генетической структуре подверженности многофакторных заболеваний даст новые знания о “коровых” и “периферических” генах и их сфере компетенции. Анализ “менделевского кода” многофакторных заболеваний важно проводить с использованием мультиомного подхода, что позволит идентифицировать “драйверные” гены и биологические пути, связанные с развитием заболеваний.

Ключевые слова: генетическая структура заболеваний, коморбидность, гены менделевских болезней, многофакторные заболевания, гипертрофическая кардиомиопатия, дилатационная кардиомиопатия.

DOI: 10.31857/S0016675822100058

Расшифровка генетической структуры заболеваний является одной из центральных проблем генетики человека и медицинской генетики, поскольку способствует пониманию этиологии и патогенеза заболевания, являясь основой для его диагностики, прогноза и лечения [1]. Однако несмотря на большое количество имеющейся информации, касающейся выявленных ассоциаций генетических вариантов с патологией, а также функциональной аннотации данных вариантов, нет цельного представления о количестве, частоте, спектре и эффектах генетических вариантов в структуре подверженности как отдельных, так и коморбидных заболеваний.

Понимание генетической структуры заболеваний еще больше усложняется тем, что наряду с изолированными патологическими состояниями, как правило, у одного человека регистрируются несколько заболеваний, особенно при увеличении возраста. В связи с этим могут существовать и определенные генетические закономерности как “в сочетании”, так и, наоборот, в “несочетании” не-

скольких заболеваний у одних и тех же индивидов – т.е. **прямая (синтропия) и обратная (дистропия) коморбидности** соответственно.

Наиболее известный пример **прямой коморбидности** – болезни сердечно-сосудистого континуума. Данное понятие объединяет основное заболевание – атеросклероз коронарных артерий и его осложнения в виде ишемической болезни сердца или инфаркта миокарда, а также их факторы риска: артериальная гипертензия, ожирение, дислипидемия, сахарный диабет 2-го типа [2]. Болезни сердечно-сосудистого континуума тесно связаны между собой в отношении патогенеза, молекулярно-генетических механизмов и спектра генов предрасположенности [3–8].

Известен и феномен **обратной коморбидности (дистропии)**, когда у одного и того же человека сочетание болезней регистрируется реже, чем это ожидается исходя из популяционной распространенности болезней, или не регистрируется вовсе. В качестве примеров можно привести низкий риск развития злокачественных новообразова-

ний у пациентов с синдромом Дауна, рассеянным склерозом, болезнями Паркинсона, Альцгеймера и Гентингтона [9, 10]. Предполагается, что для данных патологий существуют ключевые молекулы, которые входят в общие биологические пути, однако их разнонаправленная функциональная значимость приводит к разным исходам — к гибели клеток при нейродегенерации и, наоборот, к бессмертию при раке [11, 12].

Однако большинство работ по расшифровке генетической структуры как изолированных, так и коморбидных заболеваний, проведены в отношении отдельных патологических фенотипов с использованием разных методов и подходов. В связи с этим отсутствуют системные представления о генетической структуре подверженности к данным заболеваниям, биологических путях, значимых для развития патологий, и молекулярно-генетических механизмах патогенеза болезней.

Цель обзора заключается в обобщении информации, касающейся существующего “биологического родства” и коморбидности редких менделевских болезней и частых многофакторных заболеваний, а также генетической структуры и молекулярно-генетических механизмов, связывающих патологию разной природы.

“БИОЛОГИЧЕСКОЕ РОДСТВО” МЕНДЕЛЕВСКИХ БОЛЕЗНЕЙ И МНОГОФАКТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Заболевания с позиций их генетической структуры традиционно классифицируются на две основные категории [13, 14]. **Широко распространенные многофакторные болезни**, как правило, имеют полигенную основу и формируются в результате взаимодействия распространенных генетических вариантов с малым эффектом, тогда как **редкие менделевские болезни** связаны с редкими вариантами со значительным эффектом, т.е. в их основе **моногенная структура**.

Основополагающее и значимое для практики различие между многофакторными и менделевскими болезнями исторически основывалось на наличии редких, высокопенетрантных и функционально деструктивных генетических вариантов, приводящих к хорошо распознаваемым клиническим синдромам и моногенным заболеваниям, и на отсутствии таких вариантов в генетической структуре многофакторных заболеваний. Данное различие учитывалось при картировании локусов/генов заболеваний, а именно полногеномное (Whole Genome Sequencing, WGS) или экзомное секвенирование (Whole Exome Sequencing, WES) преимущественно использовалось в отношении моногенных заболеваний, а широкогеномные ассоциативные исследования (Genome Wide Associ-

ation Studies, GWAS) — для многофакторных заболеваний.

В настоящее время накапливается все больше данных, которые свидетельствуют в пользу “**биологического родства**” менделевских и многофакторных заболеваний через их фенотип, генетическую структуру и молекулярно-генетические механизмы развития [15–19]. В отношении многофакторных заболеваний существует большой ряд исключений, не подпадающих под гипотезу “common disease/common variant”, а именно показана связь редких вариантов с количественными признаками и многофакторными заболеваниями, а также выявлены частые варианты с существенным эффектом на фенотип, что позволяет среди пациентов выделить на основании этих данных группу риска и провести корректировку их лечения [20–24].

В то же время выявлено олигогенное наследование заболеваний, которые ранее относились к моногенным: в генетической структуре таких заболеваний имеются не только редкие, но и частые генетические варианты [25]. Кроме того, в результате GWAS было установлено, что частые генетические варианты способны модифицировать возраст манифестации и тяжесть течения моногенных заболеваний, а данные сравнительной и функциональной геномики выявили совместный вклад частых cis-регуляторных элементов и редких вариантов в белок-кодирующих генах в пенетрантность заболевания [26–31]. Установлено, что у одного пациента могут быть два менделевских заболевания, сходных или различных по фенотипу, которые обусловлены мутациями в генах, кодирующих белковые продукты одного и того же или разных биологических путей соответственно [32]. Другие черты моногенных заболеваний, которые сближают их с многофакторными заболеваниями, включают сходство клинических признаков и фенотипов для некоторых моногенных и многофакторных заболеваний; манифестацию аутосомно-рецессивных заболеваний у гетерозиготных носителей мутаций, а также связь гетерозиготного носительства в определенных генах менделевских болезней с риском развития многофакторных заболеваний, отличающихся по фенотипу от менделевской патологии [17, 33].

Таким образом, согласно современным представлениям, **количественные признаки и многофакторные заболевания имеют сложную генетическую структуру, представленную широким спектром вариантов, которые различаются по происхождению (унаследованные или возникшие de novo), встречаются в популяции с различной частотой (от широко распространенных до редких, регистрирующихся с частотой на уровне мутационных событий) и вносят разные по своей силе эффекты в риск заболевания у индивидов** [1, 34, 35]. В частности, существенная доля наследуемости аутизма объясняется часты-

ми генетическими вариантами, однако редкие, высокопенетрантные варианты и *de novo* мутации вносят большой вклад в риск заболевания у отдельных индивидов [35].

Подобные факты указывают на существование целого спектра генетических вариантов, связанных с болезнями, и простая дихотомическая классификация заболеваний (моногенные и многофакторные) недостаточна для формирования представления об их генетической основе. Соответственно менделевские болезни все чаще используются в качестве отправной точки для идентификации и приоритизации локусов/генов, имеющих отношение к сложным признакам и заболеваниям [33, 36, 37].

КОМОРБИДНОСТЬ МЕНДЕЛЕВСКИХ БОЛЕЗНЕЙ И МНОГОФАКТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Феномен коморбидности регистрируется в отношении заболеваний, разных по своей природе, в том числе менделевских и многофакторных. Несмотря на описанные в литературе отдельные клинические случаи о том, что у пациентов с менделевскими заболеваниями часто развиваются определенные болезни многофакторной природы, одной из пионерских работ в отношении системного анализа коморбидности менделевских и многофакторных заболеваний является исследование М.Т. Scheuner с соавт. [38], посвященное изучению родословных из базы данных Online Mendelian Inheritance in Man. Авторы данного исследования выявили, что 188 менделевских заболеваний, большая доля которых имеет аутосомно-доминантный тип наследования, часто сочетаются с 17 широко распространенными сердечно-сосудистыми заболеваниями и злокачественными новообразованиями. Причем 45.8% менделевских заболеваний связаны не с одним, а с несколькими широко распространенными заболеваниями. Например, существенное количество менделевских заболеваний связано с внезапной смертью и аритмией, кардиомиопатией и аритмией, аневризмой/артерио-венозной мальформацией и инсультом.

Использование больших данных о состоянии здоровья индивидов в виде электронных медицинских карт, а также их интеграция с результатами GWAS послужили основой для анализа коморбидности 95 менделевских и 65 многофакторных заболеваний у одних и тех же индивидов в исследовании D.R. Blair et al. [19]. В результате выявлено, что каждое многофакторное заболевание связано с разнообразной и уникальной комбинацией менделевских фенотипов, а гены и биологические пути менделевских заболеваний вовлечены в формирование предрасположенности многофакторным заболеваниям. Показано, что частые однонуклеотидные варианты (SNPs), ассоциированные с многофак-

торными заболеваниями по данным GWAS, преобладают в регионах генома, в которых присутствуют преимущественно гены менделевских болезней, что предполагает общую генетическую основу для двух данных типов заболеваний [19]. Этот факт подтверждают результаты ранее проведенных GWAS в отношении отдельных эндотипов заболеваний, например дислипидемий [39], массы миокарда [40] и других.

Работа М.К. Freund et al. [41] является закономерным продолжением исследований по поиску общности генов между менделевскими и многофакторными заболеваниями. Показано, что в локусах, ассоциированных с 62 фенотипическими (количественными) признаками по данным GWAS, существует высокая представленность генов 20 моногенных заболеваний в случае сходства клинического фенотипа данных заболеваний (как это наблюдалось, например, для ревматоидного артрита и моногенных заболеваний с поражением иммунной системы). Кроме того, некоторые локусы многофакторных заболеваний содержали гены менделевских болезней, даже при различии в клинических фенотипах данных патологий (например, системная красная волчанка и сахарный диабет зрелого возраста у молодых (MODY)), что позволяет предположить сходство молекулярно-генетических механизмов патогенеза для данных заболеваний. Также для локусов, расположенных около генов моногенных заболеваний, обнаружено увеличение значения эффекта в отношении формирования риска развития болезней многофакторной природы и/или изменчивости патогенетически значимого признака, установленных при проведении GWAS. Некоторые авторы считают, что функционального исследования в отношении многофакторных заболеваний заслуживают, прежде всего, генетические варианты, локализованные в области промоторов генов менделевских болезней или в некодирующих регионах генома рядом с данными промоторами [41].

Еще одним косвенным подтверждением того, что именно гены менделевских болезней важны для формирования подверженности многофакторным заболеваниям, является исследование N. Spataro et al. [42], согласно которому “общие” гены для менделевских и многофакторных заболеваний тесно связаны друг с другом на уровне белок-белковых взаимодействий и имеют более высокий уровень экспрессии в клетках и тканях, чем гены “только многофакторных заболеваний”. Кроме того, “общие” гены менделевских и многофакторных заболеваний имеют большое количество транскриптов и кодируют более длинные белки [43]. При проведении ассоциативных исследований варианты в “общих” генах для менделевских и многофакторных заболеваний имеют более высокое значение “отношение шансов”, чем гены “только многофакторных заболеваний” [42].

Более того, связь между менделевскими и многофакторными заболеваниями установлена для вариантов, расположенных в белок-кодирующих регионах генома (в экзонах). В частности, индивиды с аллелями промежуточного числа CAG-повторов в генах “полиглутаминовых” заболеваний имеют больший риск развития не только основного (ключевого) фенотипа, связанного с нарушением полиглутаминового тракта, но и других широко распространенных нейродегенеративных заболеваний. В частности, промежуточное число CAG-повторов в генах спиноцеребеллярной атаксии типа 1 и типа 2 (вызывают мутации в генах *ATXN1* и *ATXN2* соответственно) связано с большим риском развития бокового амиотрофического склероза [44, 45], а у индивидов с аллелями промежуточного числа CAG-повторов в гене спиноцеребеллярной атаксии 17 типа (мутации в гене *TBP*) увеличен риск развития болезни Паркинсона [46].

Иллюстрацией феномена коморбидности моногенных и многофакторных заболеваний могут служить заболевания, вызываемые мутациями митохондриальной ДНК. Учитывая очевидную важность белков-компонентов дыхательной цепи митохондрий, кодируемых мтДНК, неудивительно, что митохондриальные заболевания характеризуются большим разнообразием фенотипа. При этом чаще всего страдают наиболее энергозатратные системы органов: нервная система, сердце и мышцы. Мутации мтДНК приводят к развитию синдромов, отдельные симптомы которых совпадают с распространенными многофакторными заболеваниями: энцефалопатия, кардиомиопатия, сахарный диабет и др. [47, 48]. Логично предположить, что более “мягкие” по своему эффекту варианты мтДНК могут быть одним из факторов, обуславливающих развитие сердечно-сосудистых и неврологических заболеваний. Действительно, результаты многих работ указывают на ассоциацию полиморфизма мтДНК с многофакторными заболеваниями – нейродегенерация, сердечная недостаточность, сахарный диабет и злокачественные новообразования [49–51].

ГЕНЫ МЕНДЕЛЕВСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ – “КОРОВЫЕ” ГЕНЫ, КОТОРЫЕ ФУНКЦИОНИРУЮТ В КЛЕТКАХ ОРГАНОВ-МИШЕНЕЙ МНОГОФАКТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ И УЧАСТВУЮТ В ИХ ПАТОГЕНЕЗЕ

Согласно современной “омнигенной” модели многофакторных заболеваний, большое количество генов формирует структуру подверженности данным заболеваниям, а генетические варианты, объединенные в генные регуляторные сети, влияют на широкий спектр признаков через экспрессию данных генов в клетках [52]. Причем суще-

ствует ограниченное число центральных или “коровых” генов, которые непосредственно влияют на признак, и именно эти гены важны для изучения патогенеза заболеваний. Другие – “периферические” гены (их большее количество) оказывают опосредованное влияние на клинические признаки; даже в случае, если они находятся вне ключевых биологических путей, они имеют большее значение для наследуемости признака и являются полезными для расчета риска развития заболевания.

Можно предположить, что гены менделевских заболеваний представляют собой “коровые” гены, которые функционируют в клетках органов-мишеней многофакторных заболеваний и играют ключевую роль в их патогенезе. Выявление генов менделевских заболеваний в структуре подверженности многофакторных заболеваний может дать новые знания как о “коровых”, так и о фоновых (модифицирующих) эффектах “периферических” генов, а также позволит уточнить сферу их компетенции. В частности, анализ генов, взаимодействий и биологических путей, в которых участвуют кодирующие данными генами продукты, не только расширил представления о сходстве между менделевскими заболеваниями и злокачественными новообразованиями, но и позволил выделить “драйверные” гены и биологические пути для формирования опухолей различной локализации [53]. Однако подобные исследования все еще немногочисленны и не проводились для других групп широко распространенных заболеваний.

В частности, гипертрофическая и дилатационная кардиомиопатия (ГКМП и ДКМП соответственно) занимают ведущее место в структуре заболеваемости и смертности от сердечной недостаточности/внезапной смерти, ухудшают качество жизни индивида и составляют существенный груз для общества и системы здравоохранения. Данные заболевания характеризуются нарушением структуры и функции миокарда, но при ГКМП развиваются гипертрофия левого желудочка, необъясненная его перегрузкой, и диастолическая дисфункция, а при ДКМП, наоборот, – дилатация левого желудочка при отсутствии атеросклеротического поражения коронарных артерий и систолическая дисфункция.

Данные заболевания, согласно современным представлениям, являются олигогенными со сложной генетической архитектурой. Согласно ресурсу ClinGen, для ГКМП показана связь редких патогенных вариантов с 33 генами, из которых *MYBPC3*, *MYH7*, *TNNT2*, *TNNI3*, *TPM1*, *ACTC1*, *MYL3* и *MYL2* наиболее часто включены в диагностические панели [54, 55]. Кроме того, редкие варианты в генах *ALPK3*, *CACNA1C*, *DES*, *FHL1*, *FLNC*, *GLA*, *LAMP2*, *PRKAG2*, *PTPN11*, *RAF1*, *RIT1*, *TTR* являются причиной формирования изолированной гипертрофии левого желудочка при различных син-

Дилатационная кардиомиопатия (ДКМП)

Гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП)



Рис. 1. Приоритизация локусов GWAS дилатационной (ДКМП) и гипертрофической (ГКМП) кардиомиопатий в отношении их связи с генами менделевских болезней (МБ). Для анализа использованы результаты GWAS с уровнем значимости $p < 5 \times 10^{-8}$ [57–62]. MendelVar [63] применен для анализа обогащения локусов GWAS, ассоциированных с кардиомиопатиями, генами менделевских болезней, с учетом неравновесия по сцеплению $r^2 > 0.8$ в интервале в области SNPs. + – eQTL в левом желудочке сердца, согласно ресурсу GTEx Portal; * функция белка – ремоделирование хроматина; подчеркиванием выделены гены менделевских форм кардиомиопатий.

дромах. С ДКМП связаны редкие варианты в 46 генах, из которых *TTN*, *DSP*, *FLNC*, *LMNA*, *BAG3*, *MYH7*, *RBM20*, *TNNT2*, *DES*, *SCN5A* и *TNNC1* являются наиболее доказанными [54]. Однако редкие варианты выявляются в одной четверти случаев кардиомиопатий [56].

Несмотря на то что частые варианты по отдельности, как правило, имеют малый эффект, их суммарное влияние на фенотип может быть важно для формирования существующей вариативности клинических проявлений заболевания, в том числе у индивидов с редкими причинными вариантами в генах менделевских болезней. В частности, показано, что у индивидов с редкими патогенными вариантами в генах ГКМП существенная часть вариативности клинических признаков объясняется полигенной шкалой риска [57]. В связи с этим достаточно активно проводятся работы GWAS в отношении не только поиска локусов предрасположенности многофакторных заболеваний, но и для идентификации SNPs-модификаторов при менделевских болезнях.

При интегрированном анализе результатов GWAS в европейских популяциях для ГКМП показана ассоциация 45 частых SNPs: 25 интронных и 1 миссенс-вариант (23 генов), а для ДКМП – 45 SNPs: 13 интронных и 12 миссенс (25 генов;

рис. 1) [57–62]. Использование онлайн инструмента MendelVar [63] выявило, что 16 (70%) из 23 генов ГКМП и 14 (56%) из 25 генов ДКМП связаны с менделевскими заболеваниями (с учетом неравновесия по сцеплению $r^2 > 0.8$ в интервале в области SNPs). Варианты, ассоциированные с ГКМП, расположены в области генов менделевских болезней *CLCNKA*, *KANSL1*, *MAPT*, *WNT3*, *TRDN*, *CAMK2G*, *CEP85L*, *MATR3*, *PKD1*, *CCDC141* и *SEC24C*, а с ДКМП – *TTN*, *SVIL*, *SPEN*, *SLC39A8*, *WWOX*, *TUBB*, *TMC6*, *CDSN* и *HFE*. Генами, общими для обеих форм кардиомиопатии, являются *BAG3*, *ALPK3*, *FLNC*, *FHOD3* и *SMARCB1*. Ожидаемым является обогащение генами моногенных форм кардиомиопатий – *BAG3*, *ALPK3*, *FLNC*, *FHOD3* и *TTN*. Однако большая часть генов моногенных заболеваний (20 из 25 генов, или 80%) ранее не была ассоциирована с ГКМП и ДКМП. Вместе с тем лишь шесть вариантов являлись cis-eQTL для генов *SMARCB1*, *ALPK3*, *CLCNKA*, *KANSL1* и *MAPT* в тканях левого желудочка сердца, согласно ресурсу GTEx Portal [64].

Следует отметить, что частый вариант rs2186370:A>G, расположенный в 7-м интроне гена *SMARCB1*, ассоциирован с обоими фенотипами – ГКМП и ДКМП. Аллель А, минорный для европейцев и жителей Азии, связан с увеличением

риска ГКМП и изменением электрокардиограммы, а аллель G – ДКМП [57, 65]. В тканях левого желудочка rs2186370 расположен в сайте связывания транскрипционного фактора POLR2A, согласно ChIP-seq данным проекта ENCODE в геномном браузере UCSC [66]. Кроме того, rs2186370 сцеплен с двумя другими интронными вариантами (rs2070458, rs7284877; $r^2 = 0.96$; $D' = 0.98$; HaploReg v4.1), ассоциированными с ГКМП и ремоделированием левого желудочка при эхокардиографии/магнитно-резонансной томографии и ДКМП соответственно [57, 59, 67, 68]. Все вышеуказанные варианты являются eQTL для генов *SMARCB1*, *MMP11* и *VPREB3* в тканях левого желудочка сердца, согласно ресурсу GTEx Portal. Однако именно ген *SMARCB1* – наиболее убедительный кандидат локуса 22q11.23 в отношении формирования ДКМП. Так, показано, что частые SNPs гена *SMARCB1*, ассоциированные с ДКМП, расположены в энхансерных регуляторных элементах и модулируют экспрессию данного гена в кардиомиоцитах, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток у пациента с ДКМП [68].

Унаследованные редкие патогенные варианты (миссенс и делеции, типа “gain-of-function/dominant-negative”) в 8–9 экзонах гена *SMARCB1* являются причиной развития синдрома Коффина–Сириса – аутосомно-доминантного заболевания, которое характеризуется задержкой в развитии, умственной отсталостью; аплазией или гипоплазией дистальной фаланги или ногтя на пятых пальцах кистей/стоп; грубыми чертами лица; причем у 30% пациентов регистрируются врожденные пороки сердца [69, 70].

Более того, белковый продукт гена *SMARCB1* является субъединицей SWI/SNF-комплекса, который контролирует ремоделирование хроматина, активацию и репрессию различных генов. Среди генов менделевских болезней, в области которых расположены SNPs, ассоциированные с кардиомиопатиями, были *SPEN* и *KANSL1*, их белковые продукты также вовлечены в эпигенетические механизмы экспрессии многих генов, а редкие варианты в области данных генов приводят к разнообразным клиническим проявлениям, в том числе порокам развития сердца [71, 72]. Не исключено, что данные гены менделевских заболеваний, около которых расположены SNPs, ассоциированные с кардиомиопатиями в результате GWAS, являются приоритетными в отношении их влияния на фенотип. В частности, была показана важная роль *Spn*, который контролирует экспрессию гена коннексина 43, для функционирования сердца на модели *Danio rerio* [73]. Микроудупликация, которая захватывает первые три экзона гена *KANSL1*, ассоциирована с увеличением риска развития врожденных пороков развития сердца у пациентов с 22q11.2 делецией [74].

Следует отметить, что *SPEN* обеспечивает репрессию транскрипции через различные механизмы, включая рекрутирование белков, участвующих в деацетилировании гистонов, а *KANSL1* входит в состав гистонацетилаферазного комплекса, участвуя в ацетилировании гистонов (главным образом H4K16Ac), внося вклад как в активацию, так и репрессию транскрипции. Изменение ацетилирования гистонов тесно связано с процессом развития сердца в норме и его ремоделированием при патологии, в том числе при кардиомиопатии различного генеза [75, 76].

При проведении исследований GWAS, как правило, изучаются высокополиморфные SNPs (т.е. учитывается эффект частых генетических вариантов). В то же время редкие варианты могут также формировать “менделевский код” многофакторных заболеваний, причем их вклад может быть существенно выше, чем частых вариантов. Например, в результате анализа груза редких генетических вариантов с кардиомиопатией и эхокардиографическими признаками в крупных когортах Framingham Heart Study и Jackson Heart Study было установлено, что 11.2% индивидов имели один или более редких несинонимичных вариантов в генах саркомерных белков (*ACTC1*, *MYBPC3*, *MYH7*, *MYL2*, *MYL3*, *TNNI3*, *TNNT2*, *TPM1*), но не имели диагноза кардиомиопатии [77]. Однако у этих индивидов было выявлено статистически значимое увеличение таких эхокардиографических параметров, как толщина стенки левого желудочка и диастолический диаметр левого предсердия. Также было обнаружено, что комбинация из нескольких редких миссенс-вариантов в одном и том же гене *MYBPC3* имеет больший эффект на эхокардиографические параметры, чем отдельные варианты. Более того, индивиды с редкими вариантами в генах саркомерных белков имели более высокий риск неблагоприятных сердечно-сосудистых событий (стенокардия, инфаркт миокарда, сердечная недостаточность). Распространенность “вероятно патогенных” вариантов в данной когорте составила 0.6%, однако только 4 индивида из 22 обследованных имели симптомы гипертрофической кардиомиопатии. Эта работа подчеркивает важность изучения вовлеченности генов моногенных заболеваний, в том числе их редких вариантов, в формирование структуры подверженности многофакторных заболеваний. Полученные новые знания будут важны для установления оценки патогенности конкретных генетических вариантов в отношении фенотипа, особенно в контексте коморбидности, а также послужат основой для создания индивидуализированных моделей прогнозирования риска многофакторных заболеваний.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, между моногенными болезнями и многофакторными заболеваниями существует тесная связь на молекулярно-генетическом уровне. Феномен коморбидности между моногенными и многофакторными заболеваниями предполагает участие определенного общего числа генов и биологических путей в формировании предрасположенности к заболеваниям — “менделевский код” или невырожденный фенотипический код, который связывает каждое многофакторное заболевание с уникальной совокупностью менделевских локусов [19].

Основой для формирования такого феномена является высокая степень плейотропии генетических вариантов, поскольку показано, что плейотропия в отношении 558 признаков и заболеваний достигает 90% для локусов, 63% — для генов и 31% — для SNPs [78]. Однако генетические варианты могут влиять на разные признаки в зависимости от своего расположения в геноме как самостоятельно, так и опосредованно через сцепление с другими вариантами. Более того, SNPs с большими эффектами и являющиеся потенциально причинными для заболевания часто располагаются в области генов или близко к ним. Поскольку функциональная активность плейотропных генов менее тканеспецифична, предполагается, что они контролируют базовые и важные для клетки процессы и функции.

Анализ “менделевского кода” многофакторных заболеваний важно проводить с использованием мультиомного подхода — интеграции данных, полученных на уровне генома, эпигенома, транскриптома, протеома, метаболома, экспосома и др. в цельных тканях и единичных клетках органов-мишеней в контексте различных заболеваний или при использовании клеточных моделей болезней, модельных животных [79, 80]. Это позволит идентифицировать “драйверные” гены болезней и биологические пути, связанные с их развитием и прогрессией.

Одним из примеров использования такого подхода является реконструкция генных регуляторных сетей многофакторных заболеваний на основе интеграции результатов GWAS и RNA-seq, с последующей идентификацией ключевых генов и их аннотацией в контексте генов менделевских болезней [81]. В результате выявлено, что большая часть ключевых генов многофакторных заболеваний расположена за пределами локусов GWAS (≥ 250 тпн от лидирующего варианта), позволяя предположить существование их сложной *trans*-регуляции. Более того, предсказанные ключевые гены многофакторных заболеваний значимо обогащены генами менделевских болезней сходного фенотипа.

С практической точки зрения характеристика молекулярно-генетических механизмов коморбидности моногенных и многофакторных заболеваний важна для улучшения их диагностики, профилактики и лечения. При медико-генетическом консультировании пациентов с моногенным заболеванием следует иметь в виду, что генетическое тестирование одной патологии может дать информацию о возможном риске развития или о характере течения другого заболевания. С другой стороны, полигенная шкала риска может улучшить прогнозирование развития отдельных симптомов заболевания и его тяжести у индивидов с редкими патогенными вариантами.

В случае идентификации общих молекулярных мишеней для нескольких заболеваний лекарственные препараты, используемые при лечении одного заболевания, могут быть использованы в терапии другого. Так, показано, что гены менделевских болезней представляют собой наиболее “успешные” мишени для лекарственных препаратов [81, 82]. Таким образом, интеграция информации о генах менделевских болезней для приоритизации локусов многофакторных заболеваний может иметь положительное влияние для фармакологических разработок. С другой стороны, не исключена и обратная ситуация, когда препарат, эффективный для одного заболевания, будет оказывать неблагоприятное влияние в отношении риска другой патологии.

Работа выполнена в рамках Государственного задания Министерства науки и высшего образования.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Timpson N.J., Greenwood C.M.T., Soranzo N. et al.* Genetic architecture: The shape of the genetic contribution to human traits and disease // *Nat. Rev. Genet.* 2018. V. 19. P. 110–124. <https://doi.org/10.1038/nrg.2017.101>
2. *Dzau V., Braunwald E.* Resolved and unresolved issues in the prevention and treatment of coronary artery disease: A workshop consensus statement // *Am. Heart J.* 1991. V. 121. P. 1244–1263. [https://doi.org/10.1016/0002-8703\(91\)90694-d](https://doi.org/10.1016/0002-8703(91)90694-d)
3. *Пузырев В.П., Макеева О.А., Голубенко М.В.* Гены синтропий и сердечно-сосудистый континуум // *Информ. вестник ВОГИС.* 2006. Т. 10. № 3. С. 479–491.

4. Пузырев В.П., Фрейдин М.Б. Генетический взгляд на феномен сочетанных заболеваний человека // *Acta Naturae*. 2009. Т. 1. № 3. С. 57–63.
5. Gottesman O., Drill E., Lotay V. et al. Can genetic pleiotropy replicate common clinical constellations of cardiovascular disease and risk? // *PLoS One*. 2012. V. 7. P. e46419. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046419>
6. Пузырев В.П. Генетические основы коморбидности у человека // *Генетика*. 2015. Т. 51. № 4. С. 491–502.
7. Rankinen T., Sarzynski M.A., Ghosh S., Bouchard C. Are there genetic paths common to obesity, cardiovascular disease outcomes, and cardiovascular risk factors? // *Circ. Res*. 2015. V. 116. P. 909–922. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.302888>
8. Jia X., Yang Y., Chen Y. et al. Multivariate analysis of genome-wide data to identify potential pleiotropic genes for type 2 diabetes, obesity and coronary artery disease using MetaCCA // *Int. J. Cardiol*. 2019. V. 283. P. 144–150. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2018.10.102>
9. Tabarés-Seisdedos R., Dumont N., Baudot A. et al. No paradox, no progress: Inverse cancer comorbidity in people with other complex diseases // *Lancet Oncol*. 2011. V. 12. P. 604–608. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(11\)70041-9](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(11)70041-9)
10. Catalá-López F., Suárez-Pinilla M., Suárez-Pinilla P. et al. Inverse and direct cancer comorbidity in people with central nervous system disorders: A meta-analysis of cancer incidence in 577,013 participants of 50 observational studies // *Psychother. Psychosom*. 2014. V. 83. P. 89–105. <https://doi.org/10.1159/000356498>
11. Seo J., Park M. Molecular crosstalk between cancer and neurodegenerative diseases // *Cell Mol. Life Sci*. 2020. V. 77. P. 2659–2680. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03428-3>
12. Houck A.L., Seddighi S., Driver J.A. At the crossroads between neurodegeneration and cancer: a review of overlapping biology and its implications // *Curr. Aging Sci*. 2018. V. 11. P. 77–89. <https://doi.org/10.2174/1874609811666180223154436>
13. Manolio T.A., Collins F.S., Cox N.J. et al. Finding the missing heritability of complex diseases // *Nature*. 2009. V. 461. P. 747–753. <https://doi.org/10.1038/nature08494>
14. Claussnitzer M., Cho J.H., Collins R. et al. A brief history of human disease genetics // *Nature*. 2020. V. 577. P. 179–189. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1879-7>
15. Dipple K.M., McCabe E.R. Phenotypes of patients with simple Mendelian disorders are complex traits: Thresholds, modifiers, and systems dynamics // *Am. J. Hum. Genet*. 2000. V. 66. P. 1729–1735. <https://doi.org/10.1086/302938>
16. Badano J.L., Katsanis N. Beyond Mendel: An evolving view of human genetic disease transmission // *Nat. Rev. Genet*. 2002. V. 3. P. 779–789. <https://doi.org/10.1038/nrg910>
17. Sidransky E. Heterozygosity for a Mendelian disorder as a risk factor for complex disease // *Clin. Genet*. 2006. V. 70. P. 275–282. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2006.00688.x>
18. Katsanis N. The continuum of causality in human genetic disorders // *Genome Biol*. 2016. V. 17. P. 233. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1107-9>
19. Blair D.R., Lyttle C.S., Mortensen J.M. et al. A nondegenerate code of deleterious variants in Mendelian loci contributes to complex disease risk // *Cell*. 2013. V. 155. P. 70–80. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.08.030>
20. Cohen J., Pertsemlidis A., Kotowski I.K. et al. Low LDL cholesterol in individuals of African descent resulting from frequent nonsense mutations in PCSK9 // *Nat. Genet*. 2005. V. 37. P. 161–165. <https://doi.org/10.1038/ng1509>
21. Han K., Holder J.L.J., Schaaf C.P. et al. SHANK3 overexpression causes manic-like behaviour with unique pharmacogenetic properties // *Nature*. 2013. V. 503. P. 72–77. <https://doi.org/10.1038/nature12630>
22. Auer P.L., Teumer A., Schick U. et al. Rare and low-frequency coding variants in CXCR2 and other genes are associated with hematological traits // *Nat. Genet*. 2014. V. 46. P. 629–634. <https://doi.org/10.1038/ng.2962>
23. Lin A., Ching C.R.K., Vajdi A. et al. Mapping 22q11.2 gene dosage effects on brain morphometry // *J. Neurosci*. 2017. V. 37. P. 6183–6199. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3759-16.2017>
24. Wainschtein P., Jain D.P., Yengo L. et al. Recovery of trait heritability from whole genome sequence data // *Biorxiv*. 2019. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/588020v1>
25. Bezzina C.R., Lahrouchi N., Priori S.G. Genetics of sudden cardiac death // *Circ. Res*. 2015. V. 116. P. 1919–1936. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.304030>
26. Bečanović K., Nørremølle A., Neal S.J. et al. A SNP in the HTT promoter alters NF-κB binding and is a bidirectional genetic modifier of Huntington disease // *Nat. Neurosci*. 2015. V. 18. P. 807–816. <https://doi.org/10.1038/nn.4014>
27. Corvol H., Blackman S.M., Boëlle P.Y. et al. Genome-wide association meta-analysis identifies five modifier loci of lung disease severity in cystic fibrosis // *Nat. Commun*. 2015. V. 6. P. 8382. <https://doi.org/10.1038/ncomms9382>
28. Jordan D.M., Frangakis S.G., Golzio C. et al. Identification of cis-suppression of human disease mutations by comparative genomics // *Nature*. 2015. V. 524. P. 225–229. <https://doi.org/10.1038/nature14497>
29. Castel S.E., Cervera A., Mohammadi P. et al. Modified penetrance of coding variants by cis-regulatory variation contributes to disease risk // *Nat. Genet*. 2018. V. 50. P. 1327–1334. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0192-y>

30. *Holmans P., Stone T.* Using genomic data to find disease-modifying loci in Huntington's Disease (HD) // *Methods Mol. Biol.* 2018. V. 1780. P. 443–461. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7825-0_20
31. *Kim K.H., Hong E.P., Shin J.W. et al.* Genetic and functional analyses point to FAN1 as the source of multiple Huntington Disease modifier effects // *Am. J. Hum. Genet.* 2020. V. 107. P. 96–110. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2020.05.012>
32. *Posey J.E., Harel T., Liu P. et al.* Resolution of disease phenotypes resulting from multilocus genomic variation // *N. Engl. J. Med.* 2017. V. 376. P. 21–31. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1516767>
33. *Lupski J.R., Belmont J.W., Boerwinkle E. et al.* Clan genomics and the complex architecture of human disease // *Cell.* 2011. V. 147. P. 32–43. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.09.008>
34. *Gibson G.* Rare and common variants: Twenty arguments // *Nat. Rev. Genet.* 2012. V. 13. P. 135–145. <https://doi.org/10.1038/nrg3118>
35. *Gaugler T., Klei L., Sanders S.J. et al.* Most genetic risk for autism resides with common variation // *Nat. Genet.* 2014. V. 46. P. 881–885. <https://doi.org/10.1038/ng.3039>
36. *Dean M.* Approaches to identify genes for complex human diseases: Lessons from Mendelian disorders // *Hum. Mutat.* 2003. V. 22. P. 261–274. <https://doi.org/10.1002/humu.10259>
37. *Peltonen L., Perola M., Naukkarinen J. et al.* Lessons from studying monogenic disease for common disease // *Hum. Mol. Genet.* 2006. V. 15. № 1. P. R67–74. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddl060>
38. *Scheuner M.T., Yoon P.W., Khoury M.J.* Contribution of Mendelian disorders to common chronic disease: Opportunities for recognition, intervention, and prevention // *Am. J. Med. Genet. C Semin. Med. Genet.* 2004. V. 125C. P. 50–65. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.30008>
39. *Kathiresan S., Willer C.J., Peloso G.M. et al.* Common variants at 30 loci contribute to polygenic dyslipidemia // *Nat. Genet.* 2009. V. 41. P. 56–65. <https://doi.org/10.1038/ng.291>
40. *van der Harst P., van Setten J., Verweij N. et al.* 52 Genetic loci influencing myocardial mass // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2016. V. 68. P. 1435–1448. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.07.729>
41. *Freund M.K., Burch K.S., Shi H. et al.* Phenotype-specific enrichment of Mendelian disorder genes near GWAS regions across 62 complex traits // *Am. J. Hum. Genet.* 2018. V. 103. P. 535–552. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2018.08.017>
42. *Spataro N., Rodríguez J.A., Navarro A. et al.* Properties of human disease genes and the role of genes linked to Mendelian disorders in complex disease aetiology // *Hum. Mol. Genet.* 2017. V. 26. P. 489–500. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddw405>
43. *Jin W., Qin P., Lou H. et al.* A systematic characterization of genes underlying both complex and Mendelian diseases // *Hum. Mol. Genet.* 2012. V. 21. P. 1611–1624. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddr599>
44. *Van D.P., Veldink J.H., van B.M. et al.* Expanded ATXN2 CAG repeat size in ALS identifies genetic overlap between ALS and SCA2 // *Neurology.* 2011. V. 76. P. 2066–2072. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31821f445b>
45. *Lattante S., Pomponi M.G., Conte A. et al.* ATXN1 intermediate-length polyglutamine expansions are associated with amyotrophic lateral sclerosis // *Neurobiol. Aging.* 2018. V. 64. P. 157.e1–157.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2017.11.011>
46. *Choubtum L., Witoonpanich P., Kulkarnakorn K. et al.* Trinucleotide repeat expansion of TATA-binding protein gene associated with Parkinson's disease: A Thai multicenter study // *Parkinsonism Relat. Disord.* 2016. V. 28. P. 146–149. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2016.05.008>
47. *Васильев В.Б.* Генетические основы митохондриальных болезней. Нестор-История, 2006. 160 с.
48. *Sulaiman S.A., Rani Z.M., Radin F.Z.M. et al.* Advancement in the diagnosis of mitochondrial diseases // *J. Transl. Genet. Genom.* 2020. V. 4. P. 159–187.
49. *Kang D., Hamasaki N.* Alterations of mitochondrial DNA in common diseases and disease states: Aging, neurodegeneration, heart failure, diabetes, and cancer // *Curr. Med. Chem.* 2005. V. 12. P. 429–441. <https://doi.org/10.2174/0929867053363081>
50. *Veronese N., Stubbs B., Koyanagi A. et al.* Mitochondrial genetic haplogroups and cardiovascular diseases: Data from the Osteoarthritis Initiative // *PLoS One.* 2019. V. 14. № 3. P. e0213656. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213656>
51. *Wallace D.C., Chalkia D.* Mitochondrial DNA genetics and the heteroplasmy conundrum in evolution and disease // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2013. V. 5. № 11. P. a021220. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021220>
52. *Boyle E.A., Li Y.I., Pritchard J.K.* An expanded view of complex traits: From polygenic to omnigenic // *Cell.* 2017. V. 169. P. 1177–1186. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.05.038>
53. *Melamed R.D., Emmett K.J., Madubata C. et al.* Genetic similarity between cancers and comorbid Mendelian diseases identifies candidate driver genes // *Nat. Commun.* 2015. V. 6. P. 7033. <https://doi.org/10.1038/ncomms8033>
54. ClinGen. <https://clinicalgenome.org>
55. *Ingles J., Goldstein J., Thaxton C. et al.* Evaluating the clinical validity of hypertrophic cardiomyopathy genes // *Circ. Genom. Precis. Med.* 2019. V. 12. № 2. P. e002460. <https://doi.org/10.1161/CIRCGEN.119.002460>
56. *Alimohamed M.Z., Johansson L.F., Posafalvi A. et al.* Diagnostic yield of targeted next generation sequencing in 2002 Dutch cardiomyopathy patients // *Int. J. Cardiol.* 2021. V. 332. P. 99–104. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2021.02.069>
57. *Tadros R., Francis C., Xu X. et al.* Shared genetic pathways contribute to risk of hypertrophic and dilated cardiomyopathies with opposite directions of effect // *Nat. Genet.* 2021. V. 53. P. 128–134. <https://doi.org/10.1038/s41588-020-00762-2>

58. *Wooten E.C., Hebl V.B., Wolf M.J. et al.* Formin homology 2 domain containing 3 variants associated with hypertrophic cardiomyopathy // *Circ. Cardiovasc. Genet.* 2013. V. 6. P. 10–18.
<https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.112.965277>
59. *Harper A.R., Goel A., Grace C. et al.* Common genetic variants and modifiable risk factors underpin hypertrophic cardiomyopathy susceptibility and expressivity // *Nat. Genet.* 2021. V. 53. P. 135–142.
<https://doi.org/10.1038/s41588-020-00764-0>
60. *Villard E., Perret C., Gary F. et al.* A genome-wide association study identifies two loci associated with heart failure due to dilated cardiomyopathy // *Eur. Heart J.* 2011. V. 32. P. 1065–1076.
<https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehr105>
61. *Meder B., Rühle F., Weis T. et al.* A genome-wide association study identifies 6p21 as novel risk locus for dilated cardiomyopathy // *Eur. Heart J.* 2014. V. 35. P. 1069–1077.
<https://doi.org/10.1093/eurheartj/eh251>
62. *Esslinger U., Garnier S., Korniat A. et al.* Exome-wide association study reveals novel susceptibility genes to sporadic dilated cardiomyopathy // *PLoS One.* 2017. V. 12. № 3. P. e0172995.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172995>
63. MendelVar. <https://mendelvar.mrcieu.ac.uk/>
64. GTEx Portal. <https://gtexportal.org/home/>
65. *Verweij N., Benjamins J.W., Morley M.P. et al.* The genetic makeup of the electrocardiogram // *Cell Syst.* 2020. V. 11. P. 229–238.
<https://doi.org/10.1016/j.cels.2020.08.005>
66. UCSC genome browser. <http://genome.ucsc.edu/>
67. *Pirruccello J.P., Bick A., Wang M. et al.* Analysis of cardiac magnetic resonance imaging in 36,000 individuals yields genetic insights into dilated cardiomyopathy // *Nat. Commun.* 2020. V. 11. P. 2254.
<https://doi.org/10.1038/s41467-020-15823-7>
68. *Garnier S., Harakalova M., Weiss S. et al.* Genome-wide association analysis in dilated cardiomyopathy reveals two new players in systolic heart failure on chromosomes 3p25.1 and 22q11.23 // *Eur. Heart J.* 2021. V. 42. P. 2000–2011.
<https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehab030>
69. *Diets I.J., Prescott T., Champaigne N.L. et al.* A recurrent de novo missense pathogenic variant in SMARCB1 causes severe intellectual disability and choroid plexus hyperplasia with resultant hydrocephalus // *Genet. Med.* 2019. V. 21. P. 572–579.
<https://doi.org/10.1038/s41436-018-0079-4>
70. *Wieczorek D., Bögershausen N., Beleggia F. et al.* A comprehensive molecular study on Coffin Siris and Nicolaides Baraitser syndromes identifies a broad molecular and clinical spectrum converging on altered chromatin remodeling // *Hum. Mol. Genet.* 2013. V. 22. № 25. P. 5121–5135.
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddt366>
71. *Radio F.C., Pang K., Ciolfi A. et al.* SPEN haploinsufficiency causes a neurodevelopmental disorder overlapping proximal 1p36 deletion syndrome with an epistigmature of X chromosomes in females // *Am. J. Hum. Genet.* 2021. V. 108. P. 502–516.
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2021.01.015>
72. *Zollino M., Marangi G., Ponzi E. et al.* Intragenic KANSL1 mutations and chromosome 17q21.31 deletions: Broadening the clinical spectrum and genotype–phenotype correlations in a large cohort of patients // *J. Med. Genet.* 2015. V. 52. P. 804–814.
<https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2015-103184>
73. *Rattka M., Westphal S., Gahr B.M. et al.* Spen deficiency interferes with Connexin 43 expression and leads to heart failure in zebrafish // *J. Mol. Cell Cardiol.* 2021. V. 155. P. 25–35.
<https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2021.01.006>
74. *León L.E., Benavides F., Espinoza K. et al.* Partial microduplication in the histone acetyltransferase complex member KANSL1 is associated with congenital heart defects in 22q11.2 microdeletion syndrome patients // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. P. 1795.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-01896-w>
75. *Yang M., Zhang Y., Ren J.* Acetylation in cardiovascular diseases: Molecular mechanisms and clinical implications // *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* 2020. V. 1866. P. 165836.
<https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165836>
76. *Backs J., Olson E.N.* Control of cardiac growth by histone acetylation/deacetylation // *Circ. Res.* 2006. V. 98. P. 15–24.
<https://doi.org/10.1161/01.RES.0000197782.21444.8f>
77. *Bick A.G., Flannick J., Ito K. et al.* Burden of rare sarcomere gene variants in the Framingham and Jackson Heart Study cohorts // *Am. J. Hum. Genet.* 2012. V. 91. P. 513–519.
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2012.07.017>
78. *Watanabe K., Stringer S., Frei O. et al.* A global overview of pleiotropy and genetic architecture in complex traits // *Nat. Genet.* 2019. V. 51. P. 1339–1348.
<https://doi.org/10.1038/s41588-019-0481-0>
79. *Broekema R.V., Bakker O.B., Jonkers I.H.* A practical view of fine-mapping and gene prioritization in the post-genome-wide association era // *Open Biol.* 2020. V. 10. P. 190221.
<https://doi.org/10.1098/rsob.190221>
80. *Cano-Gamez E., Trynka G.* From GWAS to function: Using functional genomics to identify the mechanisms underlying complex diseases // *Frontiers in Genet.* 2020. V. 11. P. 424.
<https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00424>
81. *Bekker O.B., Claringbould A., Westra H.-J. et al.* Linking common and rare disease genetics through gene regulatory networks // *medRxiv.* 2021.
<https://doi.org/10.1101/2021.10.21.21265342>
82. *King E.A., Davis J.W., Degner J.F.* Are drug targets with genetic support twice as likely to be approved? Revised estimates of the impact of genetic support for drug mechanisms on the probability of drug approval // *PLoS Genet.* 2019. V. 15. № 12. P. e1008489.
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008489>

“Mendelian Code” in the Genetic Structure of Complex Diseases**M. S. Nazarenko^{a,*}, A. A. Sleptcov^a, and V. P. Puzyrev^a***^aResearch Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center
of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, 634050 Russia***e-mail: maria.nazarenko@medgenetics.ru*

The phenomenon of comorbidity between monogenic and complex diseases testifies to the participation of specific shared genes and biological pathways that contribute to the predisposition to complex diseases, known as the “Mendelian code”, which ties each complex disease with a unique set of Mendelian loci. The Mendelian disease genes within the framework of the omnigenetic model of complex diseases can act as core genes that function in the target organs and have a role in pathogenesis. Mendelian diseases are a useful point of departure to prioritize loci or genes pertinent to complex traits and diseases. This approach was applied to prioritization of genome-wide association studies-implicated loci of both hypertrophic and dilated cardiomyopathies in this review. The functional characterization of the Mendelian disease genes within genetic structure of complex diseases will provide new knowledge about the “core” and “peripheral” genes and their role. The importance of the study of the “Mendelian code” of complex diseases using a multiomic approach lies in the identification of driver genes and biological pathways that are associated with the diseases.

Keywords: genetic structure of diseases, comorbidity, Mendelian disease genes, complex diseases, hypertrophic cardiomyopathy, dilated cardiomyopathy.

МЕЖЛОКУСНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ CNV В ВАРИАБЕЛЬНОСТИ ФЕНОТИПОВ НАРУШЕНИЙ РАЗВИТИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

© 2022 г. Е. О. Беляева¹, *, И. Н. Лебедев¹

¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, 634050 Россия

*e-mail: elena.belyaeva@medgenetics.ru

Поступила в редакцию 04.04.2022 г.

После доработки 23.05.2022 г.

Принята к публикации 31.05.2022 г.

Большинство патогенетически значимых CNV, ассоциированных с нарушениями развития нервной системы, характеризуются неполной пенетрантностью и вариабельной экспрессивностью. Однако природа данных феноменов до настоящего времени остается нераскрытой. Как следствие это приводит к неопределенности прогнозов в семьях, имеющих пациентов с вариациями в числе копий ДНК, связанных с заболеванием, но унаследованных от условно здоровых родителей, что имеет принципиальное значение для медико-генетического консультирования. В данной статье обсуждаются доказательства вклада взаимодействий различных генетических вариаций в вариабельность клинических проявлений эффектов CNV при нервно-психических и интеллектуальных расстройствах.

Ключевые слова: нарушения развития нервной системы, неполная пенетрантность, вариабельная экспрессивность, модифицирующие факторы, взаимодействия CNV, “двухударная модель”.

DOI: 10.31857/S0016675822100022

Прогресс в развитии технологий анализа генома человека выявил новый тип хромосомной изменчивости – вариации в числе копий ДНК (copy number variation, CNV), открывающих неизвестные ранее закономерности гено-фенотипических корреляций [1, 2]. Оказалось, что значительная субмикроскопическая структурная вариабельность генома человека, захватывающая порядка 10% его последовательности [3], вносит существенный вклад в эволюционные процессы, межиндивидуальное разнообразие, а также в формирование большого числа заболеваний [4]. То есть CNV могут быть как фенотипически нейтральными, распространенными в популяции полиморфными вариантами, так и патогенными генетическими формами, ассоциированными с развитием патологий различных категорий: неврологических, психиатрических, онкологических, кардиометаболических, аутоиммунных [5, 6].

Большинство редких патогенных CNV, вызывающих геномные нарушения, возникают *de novo* и не повторяются. В то время как рецидивирующие CNV обуславливают высокий риск, к примеру, нервно-психических заболеваний (задержки развития, умственной отсталости, психических и поведенческих проблем). Показано, что редкие по-

вторяющиеся CNV встречаются примерно у 15% пациентов с нарушениями развития нервной системы (Neurodevelopmental disorder, NDD) [7]. К таким расстройствам относится большое число гетерогенных нозологических форм и синдромов, в основе патогенеза которых лежит нарушение нормальных процессов развития центральной нервной системы [8–10]. Причиной может стать нарушение развития мозга (нарушения образования, созревания и сокращения синапсов, роста и подвижности нейронов, передачи нервного импульса), манифестирующее психомоторными расстройствами или нарушением двигательных функций, процессов обучения, вербальной и невербальной коммуникации и поведения [11, 12].

Варианты, ассоциированные с такими нарушениями, получили название ND-CNV (Neurodevelopmental disorder-associated CNVs). Они с высокой эффективностью детектируются с помощью хромосомного микроматричного анализа, и могут быть представлены полярными изменениями копийности генов в одном и том же хромосомном регионе. В обзоре 2016 г. нами были указаны 58 локусов, в которых зарегистрированы реципрокные микроделеции и микродупликации [13]. Некоторые CNV изначально были ассоциированы со специ-

фическими нейропсихиатрическими диагнозами и названы первичными вариантами – клинически подтвержденными патогенными вариациями, связанными с риском NDD [14]. Например делеция 16p11.2 при аутизме [15, 16], делеция 3q29 при шизофрении [17], делеция 15q13.3 при эпилепсии [18]. Многие локусы ND-CNV включают дозозависимые гены, уменьшение или увеличение копийности которых обуславливает патогенность и приводит к возникновению синдромов микроделций и микродупликаций [19]. Однако в большинстве случаев нарушения развития нервной системы – это сложные полигенные состояния, возникающие в результате комбинированного действия распространенных (частота в популяции $\geq 5\%$) и редких вариантов (частота в популяции $< 1\%$) [20].

Формирование патологических фенотипов пациентов с ND-CNV не может быть сведено к простой сумме биологических процессов или компонентов. Более того, их проявления характеризуются высокой вариабельностью [21]. У носителей часто наблюдается широкий ряд физических, психиатрических и поведенческих симптомов, которые выходят за диагностические границы зарегистрированных синдромов [22]. Вариабельная экспрессивность и неполная пенетрантность могут наблюдаться даже в пределах одной семьи, при этом зачастую ND-CNV наследуются от условно здоровых родителей [23]. Кроме того, в общей популяции также встречаются носители ND-CNV, которые имеют менее выраженные признаки нарушений развития нервной системы и фенотипы, не соответствующие клиническим диагностическим порогам, например, сниженный коэффициент интеллекта (IQ) [8, 22, 24].

Таким образом, граница между полиморфными и патогенными изменениями копийности наследственного материала стирается. Наличие в геноме хромосомных микроделций или микродупликаций не обязательно приводит к развитию аномального фенотипа, а унаследованные от бессимптомных носителей дисбалансы могут являться причиной патологии. Главная задача клинической геномики состоит в том, чтобы предсказать, проявятся ли CNV, захватывающие один ген или несколько генов, как заболевание. Низкая пенетрантность, вариабельная экспрессивность и клинический полиморфизм затрудняют диагностику и понимание механизмов патологических состояний, ассоциированных с микроструктурными хромосомными аномалиями.

КЛАССИФИКАЦИЯ CNV ПО ТИПУ НАСЛЕДОВАНИЯ

Поскольку CNV часто затрагивают большое количество генов и регуляторных областей, многие из которых являются биологически активными и

включены в базу данных OMIM, было обнаружено, что патогенные CNV вызывают геномные нарушения с менделевским наследованием [25, 26] или могут быть связаны со сложными многофакторными заболеваниями [27].

В 1998 г. было дано определение понятия “геномное расстройство” – это расстройство, вызванное структурными изменениями генома человека. Такие перестройки ДНК могут привести к потере или увеличению числа копий дозозависимого гена (генов) или нарушению функций гена [28]. В то время как при большинстве моногенных заболеваний аномальный фенотип вызывается точечной мутацией, многие геномные нарушения известны как состояния, являющиеся следствием неаллельной гомологичной рекомбинации между низкокопийными повторами ДНК или сегментными дупликациями [29]. Кроме того, как и в случае крупных хромосомных аберраций, более мелкие CNV, затрагивающие только один экзон или даже меньшие участки, также связаны с развитием заболеваний у человека. Следовательно, в зависимости от размера вовлеченного геномного сегмента, его положения и геномного контекста, а также количества генов в перестроенном сегменте вместе с другими факторами риска, CNV-ассоциированные расстройства могут быть классифицированы на менделевские болезни, синдромы смежных генов, хромосомные нарушения или другие спорадические или комплексные признаки [26].

Менделевские геномные нарушения могут подразделяться на:

аутосомно-рецессивные, например, ювенильный нефронофтиз [30];

аутосомно-доминантные, такие как болезнь Шарко-Мари-Тут типа 1А или наследственная невропатия со склонностью к параличам от сдавления (оба вызваны одним из первых идентифицированных CNV, ассоциированных с заболеванием, т.е. дупликацией или делецией, соответственно, являющихся реципрокными вследствие негомологичного кроссинговера) [25];

X-сцепленные, например гемофилия А [31];

Y-сцепленные признаки, например азооспермия [32].

Стоит отметить, что болезни экспансии три-нуклеотидных повторов ДНК, как одна из форм изменчивости числа копий наследственного материала, также демонстрируют способ наследования в зависимости от хромосомной локализации вовлеченного гена. Для многих из этих расстройств характерны и некоторые немелделевские проявления. Они могут включать антиципацию при миотонической дистрофии 1-го типа [33] или фенотип-модифицирующий потенциал отдельных повторяющихся аллелей в сочетании с другими патогенными вариантами, как в случае предполагаемого реципрокного взаимодействия между

премутациями миотонической дистрофии 2-го типа и врожденной миотонией, вызванной мутациями гена *CLCN1* [34].

CNV могут оказывать влияние на статус носительства и проявление рецессивного заболевания [35]. В данной работе проанализированы CNV, выявленные методом сравнительной геномной гибридизации у 21470 человек, с целью дифференцировки делеций, затрагивающих гены рецессивных заболеваний. Было идентифицировано 3212 гетерозиготных носителей делеций, затрагивающих 419 уникальных генов рецессивных заболеваний. Некоторые индивиды имели множественные CNV (307 человек), либо делеции, охватывающие более одного рецессивного гена заболевания (206 делеций). Гетерозиготные делеции, охватывающие множественные рецессивные гены заболевания, могут придавать статус носительства множественных моногенных нарушений, сложных синдромов, возникающих в результате комбинации двух или более рецессивных состояний, или потенциально могут вызывать клинические фенотипы из-за множественного гетерозиготного состояния. В дополнение были выявлены гомозиготные и гемизиготные делеции, потенциально являющиеся причиной рецессивного заболевания. Показано, что CNV вносят вклад в аллельную архитектуру как носителей, так и рецессивных мутаций, вызывающих заболевание.

Также биаллельные CNV могут вызывать заболевание, реализуя эффект как гомозиготных делеций в кровнородственных браках [36, 37], так и сложных гетерозиготных делеций [38]. В некоторых случаях распространенные перестройки ДНК, каждая из которых независимо приводит к заболеванию, могут сочетаться у одного пациента вследствие унаследованных и/или *de novo* событий [39, 40].

Таким образом, классический молекулярно-генетический анализ рассматривает гены и локусы в традиционных менделевских терминах. Однако некоторые из общепринятых представлений должны быть скорректированы при работе с вариантами числа копий ДНК. В целом среди полиморфных CNV можно выделить “менделирующие” CNV, открытие которых в настоящее время находится в экспоненциальной фазе. Они могут приводить к развитию аутосомно-рецессивных, аутосомно-доминантных, X-сцепленных и импринтированных расстройств. Установление типа наследования CNV важно для выявления сегрегации выявленных патогенетически значимых CNV в пределах родословной, что имеет существенное значение для прогноза потомства при медико-генетическом консультировании семей, имеющих детей с интеллектуальными расстройствами и унаследованными микроструктурными хромосомными перестройками.

ГЕНО-ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯЦИИ CNV

Существенную часть нарушений развития нервной системы представляют полигенные состояния, такие как расстройства аутистического спектра или шизофрения, которые формируются вследствие комбинированного действия нескольких генетических вариантов в разных локусах [41–43]. В таких случаях, наличия в геноме одной вариации числа копий ДНК, ассоциированной с NDD, недостаточно, чтобы вызвать нервно-психическое заболевание, однако она существенно повышает риск потенциального развития варибельного спектра клинических симптомов, которые остаются непредсказуемыми. Уровень риска модифицируется другими генетическими вариантами, как редкими, так и распространенными в популяции, и может быть различным у носителей одной и той же микроабберации. Этот факт указывает на роль других факторов, влияющих на фенотипическую гетерогенность носителей ND-CNV, что имеет важное значение для клинической диагностики, профилактики, медико-генетического консультирования семей, имеющих больных с нарушениями развития и идентифицированными микроструктурными перестройками.

Документально подтверждено, что примерно у 10% детей с умственной отсталостью и врожденными аномалиями имеется вторая крупная CNV, которая может способствовать более тяжелой клинической картине [44]. Недавно был описан феномен множественных CNV, возникающих *de novo*, при котором индивиды с геномными нарушениями несут множественные конституциональные CNV, которые, по-видимому, возникают в течение определенного периода времени в процессе эмбрионального развития. Формирование множественных мутаций *de novo* является предметом интенсивного изучения и предполагает участие такого механизма как хромотрипсис [45]. Этот “мутационный поток” отличается от мультилокусной вариации или мутационного груза, в то время как унаследованные, так и *de novo* CNV и однонуклеотидные структурные варианты (SNV) агрегируют в индивидуальном геноме и модифицируют фенотипическую экспрессию [46], например, вследствие взаимодействия биологических путей как в случаях цилиопатий [47, 48] и невропатий [49].

Предполагается, что конечная клиническая картина проявлений CNV может зависеть как от воздействия окружающей среды, так и от генетического фона [50–52]. Такие влияющие генетические факторы, вероятно, включают протективные гены или гены, усугубляющие заболевание, расположенные в локусе CNV или в совершенно другой области генома. К примеру, уровень образования как косвенный показатель интеллекта родителей, по-видимому, модулирует интеллектуальные на-

рушения, связанные с делецией 22q11.2 [53], что указывает на взаимодействие CNV с распространенными полиморфными вариантами. Понимание взаимодействия между генетическими факторами, а также с окружающей средой будет ключом к более ясному определению риска заболевания, опосредованного CNV. Исследования взаимодействий между CNV с оценкой полигенного риска в качестве показателя распространенных вариантов уже были начаты при таких расстройствах, как шизофрения [54–56] и синдром дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ) [57]. Таким образом, исследования носителей CNV могут помочь разобраться в эффектах сочетаний редких и распространенных вариантов в формировании риска заболеваний нервной системы.

“ДВУХУДАРНАЯ МОДЕЛЬ” КАК МЕХАНИЗМ ВАРИАБЕЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИВНОСТИ CNV

В контекст полигенной архитектуры нарушения развития нервной системы помещают наличие любого сопутствующего варианта (или вариантов), которые изменяют риск NDD в присутствии ND-CNV или причинной вариации. В первых работах дополнительные варианты, определяемые как “совместно встречающиеся редкие CNV или CNV > 0.5 Мб у носителей ND-CNV”, были предложены в качестве объяснения фенотипической гетерогенности носителей CNV [58, 59]. Так было показано, что микроделеция 16p12.1 размером 520 тпн (NCBI Build 36, chr16: 21854025–22374785) является несиндромальной, т.е. ассоциированной с переменными фенотипами, и наследуется в 95% случаев [58]. Исследование родственников пробандов показало, что родители-носители мутации на самом деле имели субклинические проявления нейропсихического расстройства, включая депрессию, биполярное расстройство, умеренное нарушение обучаемости или судороги. Так в чем же причина подобного клинического полиморфизма? Было показано, что около 25% пробандов также являлись носителями другой более крупной делеции или дупликации. Это оказалось в 40 раз чаще по сравнению с частотой встречаемости сочетания двух и более CNV размером более 500 тпн в общей популяции. Кроме того, клинические черты у пациентов с двумя CNV отличались от тех, у кого была зарегистрирована только одна мутация. Очевидно, что две крупные CNV у одного индивида приведут к увеличению или уменьшению дозы многих генов, посредством этого создавая сенситивизированный геномный фон. Вероятно одной мутации достаточно для формирования некоторых нейропсихических отклонений, тогда как вторая мутация приводит к более тяжелому клиническому проявлению заболевания, сопровождающемуся умственной отсталостью и задержкой развития

[60]. Авторами показана сильная корреляция между долей унаследованных мутаций и частотой мутаций, возникших *de novo* ($r = 0.87$, $p > 0.01$). Данная зависимость отражает функцию приспособленности, где геномные нарушения, ассоциированные с тяжелыми синдромами, подвергаются действию сильного отбора и, следовательно, могут быть обусловлены исключительно событиями *de novo*. Описанные наблюдения и расчеты легли в основу так называемой “двухударной модели”, где вторым “ударом” является дополнительная вариация в том же локусе, которая изолированно может не иметь клинической значимости, но в комбинации с ND-CNV оказывает патогенный эффект.

“Двухударная модель” сначала была предложена для объяснения эффектов аллельных взаимодействий крупных CNV. По прошествии многих лет исследований становится очевидным, что вторая мутация может быть представлена совершенно другими типами генетических вариантов. К ним относятся дополнительные CNV в других областях генома, SNV и другие микроструктурные вариации. “Вторые удары” могут располагаться как в кодирующих, так и в некодирующих участках ДНК с высокими ($\geq 5\%$) и низкими ($< 1\%$) популяционными частотами.

МОДИФИЦИРУЮЩАЯ РОЛЬ НЕКОДИРУЮЩИХ УЧАСТКОВ ДНК

Привлекает внимание исследование М. Servetti с соавт. по изучению нарушений развития нервной системы у пациентов со сложными фенотипами потенциальной комплексной генетической основой, включающей некодирующие участки ДНК и сочетанные CNV [61]. Обследовано 12 пациентов, со сложными фенотипами, не относящимся к известным синдромальным заболеваниям, в свете информации об экспрессии генов и особенностях организации хроматина вовлеченных геномных регионов. Четыре пациента имели в геноме CNV, вероятно оказывающие косвенное воздействие на экспрессируемые в нейронах гены, и, как следствие, на реализацию патологического фенотипа. В одном случае делеция затронула *MEF2C-AS1*, который кодирует длинную некодирующую РНК (long non-coding RNA, *lncRNA*), аннотированную как антисмысловая РНК известного ассоциированного с NDD гена *MEF2C* (OMIM 600662). *MEF2C* является фактором транскрипции и играет важную роль в миогенезе и нейрогенезе. Гаплонедостаточность *MEF2C* связана с тяжелым когнитивным дефицитом со стереотипными движениями, эпилепсией и/или пороками развития головного мозга. До настоящего времени редко сообщалось об участии антисмысловых генов в NDD. Один пример представлен *PTCHD1-AS* – антисмысловым геном ассоциированного с NDD гена *PTCHD1*. Несмотря на то, что молекулярную

функцию *PTCHD1-AS* еще предстоит четко установить, было продемонстрировано, что его нарушение снижает частоту возбуждающего постсинаптического импульса в нейронах, происходящих из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) у больных с РАС, тем самым подтверждая роль этой длинной некодирующей РНК (lncRNA) в этиологии расстройств аутистического спектра [62]. В последнее время возрос интерес к регуляторным элементам экспрессии генов, таким как lncRNA и энхансерам, с учетом применения новых инструментов для их обнаружения и сточки зрения их участия в заболеваниях головного мозга, в частности, РАС и шизофрении [63, 64].

Были исследованы удаленные, либо напротив дублированные области на предмет задеирования топологически ассоциированных доменов (TAD) или их границ с помощью метода Hi-C. Делеции и дубликации могут перекрывать границы между двумя фланкирующими топологически связанными доменами, вызывая нарушение регуляции организации хроматина и, в свою очередь, нарушение регуляции вовлеченных генов, что в конечном итоге влияет на фенотип пациента. TAD представляют собой высококонсервативные геномные сегменты, которые подразделяют геном на большие единицы с частыми внутридоменными взаимодействиями и, как таковые, являются ключевыми элементами регуляторной организации млекопитающих [65]. Они разделены топологическими пограничными областями (TBR/TDB), которые представляют собой “геномные изоляторы”, блокируя взаимодействия между соседними TAD.

До сих пор влияние CNVs на границы TAD редко исследовалось при NDD [66, 67], однако известно, что CNV в некодирующих областях, затрагивающих генов, связанных с заболеванием, могут приводить к развитию патологии. Интересно, что варибельные фенотипы могут проявляться различными CNV вокруг определенного гена, в зависимости от типа CNV и его положения [68, 69]. Например нарушения регуляторных элементов *SHH* могут приводить к голопрозэнцефалии или преаксиальной полидактилии, в зависимости от расположения перестроек в окружении гена *SHH* [70, 71]. Сходным образом нарушение *SOX9* и его регуляторной области может быть связано с кампомелической дисплазией и с синдромом Пьера Робена [72] или с реверсией пола [73, 74]. Альтернативно, близлежащие дубликации могут приводить к сходному фенотипу, как в локусе *SHOX* [75, 76].

Кроме того, домены конформации хроматина могут быть разными в разных клетках и тканях, и стоит принимать во внимание, что эффекты делеций и дубликаций, выведенные на основе данных TDB, представленных в базах данных, следует считать гипотетическими, заслуживающими даль-

нейшей экспериментальной проверки. Чтобы предварительно провести более надежный анализ данных пациентов, были рассмотрены только TDB, зарегистрированные более чем в одной ткани, предполагая, что они могут представлять особенность хроматина, общую для многих тканей, включая области мозга, вовлеченные в NDD [61]. Во всех представленных случаях CNV охватывали TDB между двумя фланкирующими топологически связанными доменами, описанными как минимум в тех тканях, которые могут играть роль в фенотипе NDD, таких как кора головного мозга [77] и нейроны – производные эмбриональных стволовых клеток (human embryonic stem cell-derived neurons) [78].

МОДИФИЦИРУЮЩИЕ ЭФФЕКТЫ МЕЖЛОКУСНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ CNV

Доказательства модифицирующего эффекта, оказываемого дополнительными редкими событиями генетической изменчивости на исходы носительства вариаций, ассоциированных с нарушениями развития нервной системы, только появляются. Как было отмечено ранее, первым сообщением, представленным S. Girirajan с соавт. явилось наблюдение совместно присутствующих редких вариантов и/или CNV размером более 0.5 Мб примерно у 10% носителей ND-CNV с более тяжелым фенотипом (задержкой развития, умственной отсталостью, расстройствами аутистического спектра и врожденными пороками развития) [44, 58].

На сегодняшний день в четырех исследованиях целенаправленно изучались дополнительные редкие варианты у носителей ND-CNV. Такие CNV, ассоциированные с увеличением риска развития шизофрении, были обнаружены у носителей синдромальной микроделеции 22q11.2 [79]. С помощью хромосомного микроматричного анализа было обследовано 329 индивидов с микроделацией 22q11.2, разделенных на две группы: с проявлениями психических расстройств и без них. Показано статистически значимое отличие группы пациентов с шизофренией по носительству дополнительных редких микроделаций и микродубликаций, которые содержали гены, ассоциированные с аномальными фенотипами нервной системы и продемонстрировавшие взаимодействие с генами области микроделеции 22q11.2. Интересно, что выявленные дополнительные редкие CNV связаны с известными (например *GRM7*, 15q13.3, 16p12.2) и новыми генами и локусами риска шизофрении.

После этого проведено еще одно небольшое исследование по изучению вклада редких “вторых ударов” в манифестацию шизофрении, задержки развития и психотических эпизодов у носителей микроделеции локуса 22q11.2 [80]. С помощью матричной сравнительной геномной гибридизации

и полноэкзомного секвенирования были выявлены *de novo* и унаследованные редкие патогенные варианты, включая вариации числа копий участков ДНК за пределами области 22q11.2. Взаимодействие выявленных “вторых ударов” с гаплонедостаточностью 22q11.2 может влиять на процессы развития нервной системы, включая пролиферацию нейронов, активность цитоскелета и модификации гистонов, нарушающихся при психозах. Большое число выявленных вариантов участвует в нейрональном развитии, а в сочетании с дополнительными молекулярными событиями влияет на сенсорное восприятие, обонятельную трансдукцию и передачу сигналов через рецепторы, связанные с G-белками, что может объяснить развитие шизофрении, ассоциированной с микроделецией 22q11.2. Однако ввиду небольшого размера выборки (одна семья из 11 человек) в проведенном исследовании не было достигнуто статистически значимости для подтверждения взаимосвязи между наличием сопутствующих вариаций и нарушениями развития нервной системы. Необходимы более масштабные исследования, чтобы продемонстрировать модифицирующие эффекты других редких вариантов на фенотипы носителей ND-CNV.

В третьей работе L. Pizzo и соавт. оценивалось влияние генетического фона на фенотипическую изменчивость среди индивидов, имеющих один и тот же патогенный вариант [14]. Обследовано 757 пробандов и 233 члена семьи, несущих первичные варианты, связанные с нарушением развития нервной системы (17 редких CNV или патогенных вариантов в 301 гене). Количество редких, вероятно патогенных вариантов (“вторых ударов”), коррелировало с экспрессией фенотипов развития нервной системы у пробандов с микроделецией 16p12.1 ($n = 23$, $p = 0.004$) и у пробандов с аутизмом, имеющих нарушающие работу генов варианты ($n = 184$, $p = 0.03$) по сравнению с членами их семей-носителей. У пробандов с микроделецией 16p12.1 и отягощенным семейным анамнезом отмечались более тяжелые клинические проявления ($p = 0.04$) и более высокая частота других нарушений по сравнению с пациентами с неотягощенной наследственностью ($p = 0.001$). Количество сопутствующих вариантов также коррелировало с тяжестью когнитивных нарушений у пробандов-носителей патогенных CNV ($n = 53$) или *de novo* генных мутаций ($n = 290$). Обнаруженные “вторые удары” были определены как потенциально патогенные варианты в функционально зависимых генах, встречающиеся одновременно с первичным вариантом у носителя, и затрагивали известные ассоциированные с нейропсихическими заболеваниями гены, такие как *SETD5*, *AUTS2*, *NRXN1*, вовлеченные в клеточные процессы и процессы раннего развития. Таким образом, сравнение генетического фона между пробандами и

родителями или братьями и сестрами показало, что при наличии одного и того же первичного варианта варибельность и тяжесть нарушений развития нервной системы коррелирует с количеством сопутствующих редких вариантов. Однако в данной работе не изучались механизмы взаимодействий “вторых ударов” и ND-CNV и формирования патологических фенотипов, оставляя вопрос, который должен решаться в будущих исследованиях.

Наконец, по результатам исследования группы под руководством M. Servetti у восьми пациентов (из 12 обследованных) обнаружено по две вариации копийности участков ДНК, перекрывающихся либо с известными генами, ассоциированными с NDD, либо с генами, потенциально играющими роль в развитии нервной системы. У трех пациентов выявлены один *de novo* и один вариант, унаследованный от матери или отца, остальные пять пациентов унаследовали по одному CNV от каждого из своих здоровых родителей [61]. В трех из восьми случаев для вовлеченных генов еще не была установлена связь с заболеванием, и исследователи представили данные в пользу их участия в нарушениях развития нервной системы. Основываясь на информации базы данных “Decipher”, в которой зарегистрированы соответствующие случаи с одним CNV, а также со вторичным CNV, включающим гены, играющие роль в развитии нервной системы, был сделан вывод, что идентифицированные сопутствующие CNV у пациентов действуют аддитивно, вызывая патологические фенотипы, в соответствии с “двухударной моделью”.

Чтобы получить представление о возможном взаимодействии между генами в составе CNV, одновременно встречающихся у одного и того же пациента, и оценить, имеют ли эти гены общие молекулярные функции или биологические процессы, были проведены анализы обогащения генов и белок-белкового взаимодействия. Также осуществлена проверка взаимодействия с другими известными генами, ассоциированными с NDD, с целью определения роли новых генов-кандидатов в процессах развития нервной системы. В одном случае два основных вовлеченных гена *CNTNAP2* и *LRRC4C* взаимодействуют друг с другом и с другими генами, связанными с NDD, через *NRXN1* и выполняют общую функцию в молекулярном пути клеточной адгезии KEGG. Во всех других случаях гены, затрагиваемые сопутствующими CNV, по-видимому не взаимодействуют напрямую, однако они играют роль в различных важных биологических процессах, которые совместно способствуют правильному развитию мозга. Так, у двух пациентов выявлены гены, участвующие в одном и том же пути либо биологическом процессе, и один дополнительный ген, связанный с другим биологическим процессом. В частности, оба пациента имеют по одной CNV с генами с общей функцией в сплайсинге мРНК, и у каждого из двух пациентов

есть дополнительная CNV, включающая другой ген, участвующий в адгезии синаптической мембраны и в передаче сигналов через рецептор, связанный с G-белками. Таким образом, выдвинуто предположение, что во всех описанных случаях механизм “двойных ударов”, воздействуя на два пути или биологических процесса, в конечном итоге определяет нарушение нервно-психического развития.

Отмечено, что сопутствующие вторичные CNV, затрагивающие гены NDD, обнаруживаются и у пациентов с синдромальными или рекуррентными потенциально патогенными CNV, которые могли модулировать пенетрантность и/или тяжесть заболевания. Это явление хорошо иллюстрируется двумя случаями сибсов, которые имеют две общих CNV, затрагивающих известные гены NDD, включая известную микроделецию 15q11.2 со сниженной пенетрантностью [81]. В дополнение к этим двум CNV одна пациентка имела микроделецию хромосомы 16, включающую известный ген NDD *RBFOX1*, также характеризующийся сниженной пенетрантностью [82]. Эта пациентка, являющаяся носителем в общей сложности трех CNV, демонстрировала более сложный фенотип по сравнению с ее братом.

В целом, в данном исследовании сделан вывод о некоторых синергетических и сложных механизмах, которые могли вызвать нарушение развития нервной системы у обследованных пациентов. Тем не менее, новые гены-кандидаты и гены, затронутые сопутствующими CNV, хотя и индивидуально связаны с биологическими процессами NDD, требуют дальнейшего функционального анализа для понимания их потенциальных взаимодействий и, в конечном итоге, для уточнения их модифицирующего эффекта и вклада в формирование патологических фенотипов пациентов.

ВОЗМОЖНОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ДОКАЗАТЕЛЬСТВ МЕЖЛОКУСНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ CNV

Высокая вариабельность и сложность генетических компонентов затрудняют функциональную проверку генов и патогенных механизмов нарушений развития нервной системы. Проверка гипотезы о механистической структуре у одного пациента может представлять собой отдельный исследовательский проект. К примеру, в приведенной выше работе можно рассмотреть различные уровни дообследования, начиная с проверки влияния CNV на экспрессию соответствующих генов в нейронах, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) пациентов. С помощью такого подхода возможно оценить влияние делеций антисмысловых транскриптом или генов микроРНК на экспрессию их специфических мишеней или CNV, включающих границы

TAD на вовлеченных генах. Дальнейший этап исследования может заключаться в анализе морфологии и связей в нейронах, полученных из ИПСК, с целью выявления нарушений молекул клеточной адгезии. Нейроны, полученные из ИПСК, можно использовать для оценки дефектов сплайсинга РНК. Для изучения влияния более сложных генетических механизмов на развитие мозга и поведение, дальнейший уровень проверки может быть представлен исследованиями на животных моделях. Поскольку могут быть получены мыши с двойными/множественными гетерозиготными вариантами [83], также можно оценить синергетические эффекты нескольких вариантов. С этой точки зрения, а также, поскольку доступны мышиные модели для генов *LRRC4C* и *CNTNAP2*, может быть интересно получить линию мышей, несущих гетерозиготные мутации с потерей функции в обоих генах.

Обращает на себя внимание, что в новых исследованиях “двухударная гипотеза” выходит за рамки объяснения взаимодействий двух герминативных вариантов, наблюдаемых, к примеру, у пациентов с тяжелой задержкой развития. Она подтверждается наличием дополнительного соматического генетического варианта, присутствующего только в нарушенных отделах головного мозга и возникающего во время клеточного деления, когда быстрая пролиферация клеток-предшественников нейронов обеспечивает идеальную среду для накопления мозаичных соматических вариантов. Данная модель “двух ударов” со сниженной пенетрантностью, когда герминативные варианты создают риск и в сочетании со вторым, постзиготическим генетическим нарушением, вызывают порок развития, была подтверждена недавними наблюдениями. Так, были описаны две мутации в одном и том же гене *TSC2* у двух пациентов с гемимегалэнцефалией [84], и в *DEPDC5* у шести пациентов с фокальной корковой дисплазией [85, 86]. У всех шести пациентов герминативный вариант был обнаружен в ДНК, выделенной из крови, а второй соматический вариант с низкой аллельной фракцией в том же гене был обнаружен только в ДНК, полученной из тканей головного мозга. Еще в одном исследовании варианты в разных генах были зарегистрированы в двух случаях: один пациент страдал эпилепсией и был носителем мутации гена *TSC2* в сочетании с соматической вариацией гена *DEPDC5* [87], а у другого была гемимегалэнцефалия и фармакорезистентная эпилепсия и идентифицированы соматические варианты в генах *MTOR* и *RPS6* [88]. Наконец, в работе текущего года предполагается кумулятивный эффект вариантов в двух генах рапамицинового (mTOR) пути, вовлеченного в формирование нескольких пороков развития коры головного мозга. У двух братьев, страдающих структурной фокальной лекарственно-резистентной эпилепсией, обусловленной фо-

кальной кортикальной дисплазией (ФКД), идентифицированы патогенные герминативные варианты mTOR-пути (*NPRL3*). И у одного из sibсов верифицирован соматический вариант (*WNT2*) в пересекающемся сигнальном пути WNT, потенциально вовлекающий ген *WNT2* в развитие ФКД и поддерживая тем самым “двухударную модель” [89]. Однако, учитывая, что соматические варианты часто присутствуют с очень низкой долей аллелей (например, в <5% молекул ДНК), их сложно обнаружить без целенаправленного глубокого секвенирования, что означает, что такие варианты обнаруживаются редко. Тем не менее, будучи ограниченными тканями мозга, патогенные варианты вносят свой вклад в “скрытую генетику” ряда неврологических заболеваний [90].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном обзоре приведены результаты исследований, подтверждающих гипотезу о том, что механизмы “двойных ударов”, включающие унаследованные и *de novo* CNV, могут посредством синергетического взаимодействия формировать или модулировать фенотип нарушений развития нервной системы. Поскольку варианты, вызывающие нервно-психические расстройства, могут быть представлены как CNV, так и однонуклеотидными вариантами (SNV), изолированными или комбинированными, подход к молекулярно-генетической диагностике нарушений нейропсихического развития вероятно должен учитывать методы, способные обнаруживать оба типа генетической изменчивости. Недавно опубликованные данные показывают, что при NDD полноэкзомное секвенирование имеет диагностический выход порядка 36%, тогда как хромосомный микроматричный анализ – менее 20% [91, 92]. Кроме того, целесообразно практиковать интегрированную структуру исследования сочетанных CNV на основе общедоступных ресурсов геномных аннотаций и биоинформационного анализа для приоритизации генов-кандидатов и биологических путей. Таким образом, идентификация комбинаций патогенных вариантов представляется более эффективной при последовательном применении хромосомного микроматричного анализа и секвенирования экзона, что подчеркивает важность детекции генетического фона для уточнения пенетрантности клинически значимой вариации [14].

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-75-00112, <https://rscf.ru/project/21-75-00112/>.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Riggs E.R., Andersen E.F., Cherry A.M. et al. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen) // *Genet. Med.* 2020. V. 22. № 2. P. 245–257. <https://doi.org/10.1038/s41436-019-0686-8>
2. Pös O., Radvanszky J., Buglyó G. et al. DNA copy number variation: Main characteristics, evolutionary significance, and pathological aspects // *Biomed. J.* 2021. V. 44. № 5. P. 548–559. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2021.02.003>
3. Hovhannisyán G., Harutyunyan T., Aroutiounian R. et al. DNA copy number variations as markers of mutagenic impact // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. № 19. P. 4723. <https://doi.org/10.3390/ijms20194723>
4. Yang X., Lee W.P., Ye K., Lee C. One reference genome is not enough // *Genome Biol.* 2019. V. 20. № 1. P. 104. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1717-0>
5. Li Y.R., Glessner J.T., Coe B.P. et al. Rare copy number variants in over 100000 European ancestry subjects reveal multiple disease associations // *Nat. Commun.* 2020. V. 11. № 1. P. 255. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13624-1>
6. Niarchou M., Chawner S.J.R.A., Doherty J.L. et al. Psychiatric disorders in children with 16p11.2 deletion and duplication // *Transl. Psychiatry.* 2019. V. 9. № 1. P. 8. <https://doi.org/10.1038/s41398-018-0339-8>
7. Wilfert A.B., Sulovari A., Turner T.N. et al. Recurrent *de novo* mutations in neurodevelopmental disorders: Properties and clinical implications // *Genome Med.* 2017. V. 9. № 1. P. 101. <https://doi.org/10.1186/s13073-017-0498-x>
8. Owen D., Bracher-Smith M., Kendall K.M. et al. Effects of pathogenic CNVs on physical traits in participants of the UK Biobank // *BMC Genomics.* 2018. V. 19. № 1. P. 867. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5292-7>
9. Cardoso A.R., Lopes-Marques M., Silva R.M. et al. Essential genetic findings in neurodevelopmental disorders // *Hum. Genomics.* 2019. V. 13. № 1. P. 31. <https://doi.org/10.1186/s40246-019-0216-4>
10. Morris-Rosendahl D.J., Crocq M.A. Neurodevelopmental disorders-the history and future of a diagnostic concept // *Dialogues Clin. Neurosci.* 2020. V. 22. № 1. P. 65–72. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2020.22.1>
11. Ismail F.Y., Shapiro B.K. What are neurodevelopmental disorders? // *Curr. Opin. Neurol.* 2019. V. 32. № 4. P. 611–616. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000710>
12. D’haene E., Vergult S. Interpreting the impact of non-coding structural variation in neurodevelopmental dis-

- orders // *Genet. Med.* 2021. V. 1. № 34. P. 34–46.
<https://doi.org/10.1038/s41436-020-00974-1>
13. *Кашеварова А.А., Лебедев И.Н.* Геномная архитектура хромосомных болезней человека // *Генетика*. 2016. Т. 52. № 5. С. 511–528.
<https://doi.org/10.7868/S0016675816040068>
 14. *Pizzo L., Jensen M., Polyak A. et al.* Rare variants in the genetic background modulate cognitive and developmental phenotypes in individuals carrying disease-associated variants // *Genet. Med.* 2019. V. 21. № 4. P. 816–825.
<https://doi.org/10.1038/s41436-018-0266-3>
 15. *Weiss L.A., Shen Y., Korn J.M. et al.* Association between microdeletion and microduplication at 16p11.2 and autism // *N. Engl. J. Med.* 2008. V. 358. № 7. P. 667–675.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa075974>
 16. *Zufferey F., Sherr E.H., Beckmann N.D. et al.* A 600 kb deletion syndrome at 16p11.2 leads to energy imbalance and neuropsychiatric disorders // *J. Medical Genetics*. 2012. V. 49. № 10. P. 660–668.
<https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2012-101203>
 17. *Mulle J.G.* The 3q29 deletion confers >40-fold increase in risk for schizophrenia // *Mol. Psychiatry*. 2015. V. 20. № 9. P. 1028–1029.
<https://doi.org/10.1038/mp.2015.76>
 18. *Helbig I., Mefford H.C., Sharp A.J. et al.* 15q13.3 microdeletions increase risk of idiopathic generalized epilepsy // *Nat. Genet.* 2009. V. 41. № 2. P. 160–162.
<https://doi.org/10.1038/ng.292>
 19. *Rice A.M., McLysaght A.* Dosage sensitivity is a major determinant of human copy number variant pathogenicity // *Nat. Commun.* 2017. V. 8. P. 14366.
<https://doi.org/10.1038/ncomms14366>
 20. *Geschwind D.H., Flint J.* Genetics and genomics of psychiatric disease // *Science*. 2015. V. 349. № 6255. P. 1489–1494.
<https://doi.org/10.1126/science.aaa8954>
 21. *Falk A., Heine V.M., Harwood A.J. et al.* Modeling psychiatric disorders: from genomic findings to cellular phenotypes // *Mol. Psychiatry*. 2016. V. 9. P. 1167–1179.
<https://doi.org/10.1038/mp.2016.89>
 22. *Crawford K., Bracher-Smith M., Owen D. et al.* Medical consequences of pathogenic CNVs in adults: analysis of the UK Biobank // *J. Med. Genet.* 2019. V. 56. № 3. P. 131–138.
<https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2018-105477>
 23. *Woodbury-Smith M., Nicolson R., Zarrei M. et al.* Variable phenotype expression in a family segregating microdeletions of the *NRXN1* and *MBD5* autism spectrum disorder susceptibility genes // *NPJ Genom. Med.* 2017. V. 2. P. 17.
<https://doi.org/10.1038/s41525-017-0020-9>
 24. *Kendall K.M., Bracher-Smith M., Fitzpatrick H. et al.* Cognitive performance and functional outcomes of carriers of pathogenic copy number variants: Analysis of the UK Biobank // *Br. J. Psychiatry*. 2019. V. 214. № 5. P. 297–304.
<https://doi.org/10.1192/bjp.2018.301>
 25. *Lupski J.R., de Oca-Luna R.M., Slaugenhaupt S. et al.* DNA duplication associated with Charcot-Marie-Tooth disease type 1A // *Cell*. 1991. V. 66. № 2. P. 219–232.
[https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90613-4](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90613-4)
 26. *Stankiewicz P., Lupski J.R.* Genome architecture, rearrangements and genomic disorders // *Trends Genet.* 2002. V. 18. № 2. P. 74–82.
[https://doi.org/10.1016/s0168-9525\(02\)02592-1](https://doi.org/10.1016/s0168-9525(02)02592-1)
 27. *Fellermann K., Stange D.E., Schaeffeler E. et al.* A chromosome 8 gene-cluster polymorphism with low human beta-defensin 2 gene copy number Predisposes to Crohn disease of the colon // *Am. J. Hum. Genet.* 2006. V. 79. № 3. P. 439–448.
<https://doi.org/10.1086/505915>
 28. *Lupski J.R.* Genomic disorders: Structural features of the genome can lead to DNA rearrangements and human disease traits // *Trends Genet.* 1998. V. 14. № 10. P. 417–422.
[https://doi.org/10.1016/s0168-9525\(98\)01555-8](https://doi.org/10.1016/s0168-9525(98)01555-8)
 29. *Shaffer L.G., Lupski J.R.* Molecular mechanisms for constitutional chromosomal rearrangements in humans // *Annu. Rev. Genet.* 2000. V. 34. P. 297–329.
<https://doi.org/10.1146/annurev.genet.34.1.297>
 30. *Konrad M., Saunier S., Heidet L. et al.* Large homozygous deletions of the 2q13 region are a major cause of juvenile nephronophthisis // *Hum. Mol. Genet.* 1996. V. 5. № 3. P. 367–371.
<https://doi.org/10.1093/hmg/5.3.367>
 31. *Gitschier J., Wood W.I., Tuddenham E.G. et al.* Detection and sequence of mutations in the factor VIII gene of haemophiliacs // *Nature*. 1985. V. 315. № 6018. P. 427–430.
<https://doi.org/10.1038/315427a0>
 32. *Kuroda-Kawaguchi T., Skaletsky H., Brown L.G. et al.* The AZFc region of the Y chromosome features massive palindromes and uniform recurrent deletions in infertile men // *Nat. Genet.* 2001. V. 29. № 3. P. 279–286.
<https://doi.org/10.1038/ng757>
 33. *Brook J.D., McCurrach M.E., Harley H.G. et al.* Molecular basis of myotonic dystrophy: Expansion of a trinucleotide (CTG) repeat at the 3' end of a transcript encoding a protein kinase family member // *Cell*. 1992. V. 68. № 4. P. 799–808.
[https://doi.org/10.1016/0092-8674\(92\)90154-5](https://doi.org/10.1016/0092-8674(92)90154-5)
 34. *Radvanszky J., Surovy M., Polak E., Kadasi L.* Uninterrupted CCTG tracts in the myotonic dystrophy type 2 associated locus // *Neuromuscul. Disord.* 2013. V. 23. № 7. P. 591–598.
<https://doi.org/10.1016/j.nmd.2013.02.013>
 35. *Boone P.M., Campbell I.M., Baggett B.C. et al.* Deletions of recessive disease genes: CNV contribution to carrier states and disease-causing alleles // *Genome Res.* 2013. V. 23. № 9. P. 1383–1394.
<https://doi.org/10.1101/gr.156075.113>
 36. *Chen D.H., Naydenov A., Blankman J.L. et al.* Two novel mutations in *ABHD12*: Expansion of the mutation spectrum in *PHARC* and assessment of their functional effects // *Hum. Mutat.* 2013. V. 34. № 12. P. 1672–1678.
<https://doi.org/10.1002/humu.22437>
 37. *Parvari R., Brodyansky I., Elpeleg O. et al.* A recessive contiguous gene deletion of chromosome 2p16 associ-

- ated with cystinuria and a mitochondrial disease // *Am. J. Hum. Genet.* 2001. V. 69. № 4. P. 869–875.
<https://doi.org/10.1086/323624>
38. *Harel T., Yoon W.H., Garone C. et al.* Recurrent *de novo* and biallelic variation of *ATAD3A*, encoding a mitochondrial membrane protein, results in distinct neurological syndromes // *Am. J. Hum. Genet.* 2016. V. 99. № 4. P. 831–845.
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.08.007>
 39. *Potocki L., Chen K.S., Koeuth T. et al.* DNA rearrangements on both homologues of chromosome 17 in a mildly delayed individual with a family history of autosomal dominant carpal tunnel syndrome // *Am. J. Hum. Genet.* 1999. V. 64. № 2. P. 471–478.
<https://doi.org/10.1086/302240>
 40. *Bi W., Probst F.J., Wiszniewska J. et al.* Co-occurrence of recurrent duplications of the DiGeorge syndrome region on both chromosome 22 homologues due to inherited and *de novo* events // *J. Med. Genet.* 2012. V. 49. № 11. P. 681–688.
<https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2012-101002>
 41. *Pardiñas A.F., Holmans P., Pocklington A.J. et al.* Common schizophrenia alleles are enriched in mutation-intolerant genes and in regions under strong background selection // *Nat. Genet.* 2018. V. 50. № 3. P. 381–389.
<https://doi.org/10.1038/s41588-018-0059-2>
 42. *Grove J., Ripke S., Als T.D. et al.* Identification of common genetic risk variants for autism spectrum disorder // *Nat. Genet.* 2019. V. 51. № 3. P. 431–444.
<https://doi.org/10.1038/s41588-019-0344-8>
 43. *Satterstrom F.K., Kosmicki J.A., Wang J. et al.* Large-scale exome sequencing study implicates both developmental and functional changes in the neurobiology of autism // *Cell.* 2020. V. 180. № 3. P. 568–584. e23.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.12.036>
 44. *Girirajan S., Rosenfeld J.A., Coe B.P. et al.* Phenotypic heterogeneity of genomic disorders and rare copy-number variants // *N. Engl. J. Med.* 2012. V. 367. № 14. P. 1321–1331.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1200395>
 45. *Brás A., Rodrigues A.S., Rueff J.* Copy number variations and constitutional chromothripsis (Review) // *Biomed. Rep.* 2020. V. 13. № 3. P. 11.
<https://doi.org/10.3892/br.2020.1318>
 46. *Pebrel-Richard C., Debost-Legrand A., Eymard-Pierre E. et al.* An unusual clinical severity of 16p11.2 deletion syndrome caused by unmasked recessive mutation of *CLN3* // *Eur. J. Hum. Genet.* 2014. V. 22. № 3. P. 369–373.
<https://doi.org/10.1038/ejhg.2013.141>
 47. *Lindstrand A., Davis E.E., Carvalho C.M. et al.* Recurrent CNVs and SNVs at the *NPHP1* locus contribute pathogenic alleles to Bardet-Biedl syndrome // *Am. J. Hum. Genet.* 2014. V. 94. № 5. P. 745–754.
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.03.017>
 48. *Lindstrand A., Frangakis S., Carvalho C.M. et al.* Copy-number variation contributes to the mutational load of Bardet-Biedl syndrome // *Am. J. Hum. Genet.* 2016. V. 99. № 2. P. 318–336.
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.04.023>
 49. *Gonzaga-Jauregui C., Harel T., Gambin T. et al.* Exome sequence analysis suggests that genetic burden contributes to phenotypic variability and complex neuropathy // *Cell. Rep.* 2015. V. 12. № 7. P. 1169–1183.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.07.023>
 50. *Kirov G., Rees E., Walters J.T.R.* The penetrance of copy number variations for schizophrenia and developmental delay // *Biol. Psychiatry.* 2014. V. 75. № 5. P. 378–385.
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.07.022>
 51. *Huguet G., Schramm C., Douard E. et al.* Measuring and estimating the effect sizes of copy number variants on general intelligence in community-based samples // *JAMA Psychiatry.* 2018. V. 75. № 5. P. 447–457.
<https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2018.0039>
 52. *Cleynen I., Engchuan W., Hestand M.S. et al.* Genetic contributors to risk of schizophrenia in the presence of a 22q11.2 deletion // *Mol. Psychiatry.* 2021. V. 26. № 8. P. 4496–4510.
<https://doi.org/10.1038/s41380-020-0654-3>
 53. *Klaassen P., Duijff S., Swanenburg de Veye H. et al.* Explaining the variable penetrance of CNVs: Parental intelligence modulates expression of intellectual impairment caused by the 22q11.2 deletion // *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet.* 2016. V. 171. № 6. P. 790–796.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32441>
 54. *Tansey K.E., Rees E., Linden D.E. et al.* Common alleles contribute to schizophrenia in CNV carriers // *Mol. Psychiatry.* 2016. V. 21. № 8. P. 1085–1089.
<https://doi.org/10.1038/mp.2015.143>
 55. *Bergen S.E., Ploner A., Howrigan D. et al.* Joint contributions of rare copy number variants and common SNPs to risk for schizophrenia // *Am. J. Psychiatry.* 2018. V. 176. № 1. P. 29–35.
<https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2018.17040467>
 56. *Davies R.W., Fiksinski A.M., Breetvelt E.J. et al.* Using common genetic variation to examine phenotypic expression and risk prediction in 22q11.2 deletion syndrome // *Nature Medicine.* 2020. V. 26. № 12. P. 1912–1918.
<https://doi.org/10.1038/s41591-020-1103-1>
 57. *Martin J., O'Donovan M.C., Thapar A. et al.* The relative contribution of common and rare genetic variants to *ADHD* // *Transl. Psychiatry.* 2015. V. 5. № 2. P. e506.
<https://doi.org/10.1038/tp.2015.5>
 58. *Girirajan S., Rosenfeld J.A., Cooper G.M. et al.* A recurrent 16p12.1 microdeletion supports a two-hit model for severe developmental delay // *Nat. Genet.* 2010. V. 42. № 3. P. 203–209.
<https://doi.org/10.1038/ng.534>
 59. *Kirov G., Pocklington A.J., Holmans P. et al.* *De novo* CNV analysis implicates specific abnormalities of post-synaptic signalling complexes in the pathogenesis of schizophrenia // *Mol. Psychiatry.* 2012. V. 17. № 2. P. 142–153.
<https://doi.org/10.1038/mp.2011.154>
 60. *Girirajan S., Eichler E.E.* Phenotypic variability and genetic susceptibility to genomic disorders // *Hum. Mol. Genet.* 2010. V. 19. № R2. P. 176–187.
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddq366>
 61. *Servetti M., Pisciotto L., Tassano E. et al.* Neurodevelopmental disorders in patients with complex phenotypes and potential complex genetic basis involving

- non-coding genes, and double CNVs // *Front. Genet.* 2021. V. 12. P. 732002.
<https://doi.org/10.3389/fgene.2021.732002>
62. Ross P.J., Zhang W.B., Mok R.S.F. et al. Synaptic dysfunction in human neurons with autism-associated deletions in *PTCHD1-AS* // *Biol. Psychiatry.* 2020. V. 87. № 2. P. 139–149.
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2019.07.014>
 63. Piluso G., Monteleone P., Galderisi S. et al. Assessment of *de novo* copy-number variations in Italian patients with schizophrenia: Detection of putative mutations involving regulatory enhancer elements // *World J. Biol. Psychiatry.* 2019. V. 20. № 2. P. 126–136.
<https://doi.org/10.1080/15622975.2017.1395072>
 64. Alinejad-Rokny H., Heng J.I.T., Forrest A.R.R. Brain-enriched coding and long non-coding RNA genes are overrepresented in recurrent neurodevelopmental disorder CNVs // *Cell Rep.* 2020. V. 33. № 4. P. 108307.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108307>
 65. Lupiáñez D.G., Kraft K., Heinrich V. et al. Disruptions of topological chromatin domains cause pathogenic rewiring of gene-enhancer interactions // *Cell.* 2015. V. 161. № 5. P. 1012–1025.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.04.004>
 66. Di Gregorio E., Riberi E., Belligni E.F. et al. Copy number variants analysis in a cohort of isolated and syndromic developmental delay/intellectual disability reveals novel genomic disorders, position effects and candidate disease genes // *Clin. Genet.* 2017. V. 92. № 4. P. 415–422.
<https://doi.org/10.1111/cge.13009>
 67. Melo U.S., Schöpflin R., Acuna-Hidalgo R. et al. Hi-C identifies complex genomic rearrangements and TAD-Shuffling in developmental diseases // *Am. J. Hum. Genet.* 2020. V. 106. № 6. P. 872–884.
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2020.04.016>
 68. Ordulu Z., Kammin T., Brand H. et al. Structural chromosomal rearrangements require nucleotide-level resolution: Lessons from next-generation sequencing in prenatal diagnosis // *Am. J. Hum. Genet.* 2016. V. 99. № 5. P. 1015–1033.
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.08.022>
 69. Zhang F., Lupski J.R. Non-coding genetic variants in human disease // *Hum. Mol. Genet.* 2015. V. 24. № R1. P. R102–R110.
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddv259>
 70. Fernandez B.A., Siegel-Bartelt J., Herbrick J.A. et al. Holoprosencephaly and cleidocranial dysplasia in a patient due to two position-effect mutations: case report and review of the literature // *Clin. Genet.* 2005. V. 68. № 4. P. 349–359.
<https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2005.00498.x>
 71. Petit F., Jourdain A.S., Holder-Espinasse M. et al. The disruption of a novel limb cis-regulatory element of *SHH* is associated with autosomal dominant preaxial polydactyly-hypertrichosis // *Eur. J. Hum. Genet.* 2016. V. 24. № 1. P. 37–43.
<https://doi.org/10.1038/ejhg.2015.53>
 72. Benko S., Fantès J.A., Amiel J. et al. Highly conserved non-coding elements on either side of *SOX9* associated with Pierre Robin sequence // *Nat. Genet.* 2009. V. 41. № 3. P. 359–364.
<https://doi.org/10.1038/ng.329>
 73. Cox J.J., Willatt L., Homfray T., Woods C.G. A *SOX9* duplication and familial 46,XX developmental testicular disorder // *N. Engl. J. Med.* 2011. V. 364. № 1. P. 91–93.
<https://doi.org/10.1056/NEJMc1010311>
 74. Pop R., Conz C., Lindenberg K.S. et al. Screening of the 1 Mb *SOX9* 5' control region by array CGH identifies a large deletion in a case of campomelic dysplasia with XY sex reversal // *J. Med. Genet.* 2004. V. 41. № 4. P. e47.
<https://doi.org/10.1136/jmg.2003.013185>
 75. Fukami M., Naiki Y., Muroya K. et al. Rare pseudoautosomal copy-number variations involving *SHOX* and/or its flanking regions in individuals with and without short stature // *J. Hum. Genet.* 2015. V. 60. № 9. P. 553–556.
<https://doi.org/10.1038/jhg.2015.53>
 76. Bunyan D.J., Baffico M., Capone L. et al. Duplications upstream and downstream of *SHOX* identified as novel causes of Leri–Weill dyschondrosteosis or idiopathic short stature // *Am. J. Med. Genet. A.* 2016. V. 170. № 4. P. 949–957.
 77. Schmitt A.D., Hu M., Ren B. Genome-wide mapping and analysis of chromosome architecture // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2016. V. 17. № 12. P. 743–755.
<https://doi.org/10.1038/nrm.2016.104>
 78. Dixon J.R., Jung I., Selvaraj S. et al. Chromatin architecture reorganization during stem cell differentiation // *Nature.* 2015. V. 518. № 7539. P. 331–336.
<https://doi.org/10.1038/nature14222>
 79. Bassett A.S., Lowther C., Merico D. et al. International 22q11.2DS brain and behavior consortium. Rare genome-wide copy number variation and expression of schizophrenia in 22q11.2 deletion syndrome // *Am. J. Psychiatry.* 2017. V. 174. № 11. P. 1054–1063.
<https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2017.16121417>
 80. Michaelovsky E., Carmel M., Frisch A. et al. Risk gene-set and pathways in 22q11.2 deletion-related schizophrenia: A genealogical molecular approach // *Transl. Psychiatry.* 2019. V. 9. № 1. P. 15.
<https://doi.org/10.1038/s41398-018-0354-9>
 81. Cox D.M., Butler M.G. The 15q11.2 BP1-BP2 microdeletion syndrome: A review // *Int. J. Mol. Sci.* 2015. V. 16. № 2. P. 4068–4082.
<https://doi.org/10.3390/ijms16024068>
 82. Lal D., Trucks H., Möller R.S. et al. Rare exonic deletions of the *RBFOX1* gene increase risk of idiopathic generalized epilepsy // *Epilepsia.* 2013. V. 54. № 2. P. 265–271.
<https://doi.org/10.1111/epi.12084>
 83. Bossi S., Musante I., Bonfiglio T. et al. Genetic inactivation of mGlu5 receptor improves motor coordination in the Grm1crv4 mouse model of *SCAR13* ataxia // *Neurobiol. Dis.* 2018. V. 109 (Pt A). P. 44–53.
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2017.10.001>
 84. Lim J.S., Gopalappa R., Kim S.H. et al. Somatic mutations in *TSC1* and *TSC2* cause focal cortical dysplasia // *Am. J. Hum. Genet.* 2017. V. 100. № 3. P. 454–472.
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.01.030>
 85. Lee W.S., Stephenson S.E.M., Howell K.B. et al. Second-hit *DEPDC5* mutation is limited to dysmorphic neurons in cortical dysplasia type IIA // *Ann. Clin.*

- Transl. Neurol. 2019. V. 6. № 7. P. 1338–1344.
<https://doi.org/10.1002/acn3.50815>
86. *Baldassari S., Ribierre T., Marsan E. et al.* Dissecting the genetic basis of focal cortical dysplasia: A large cohort study // *Acta. Neuropathol.* 2019. V. 138. № 6. P. 885–900.
<https://doi.org/10.1007/s00401-019-02061-5>
87. *Sim N.S., Ko A., Kim W.K. et al.* Precise detection of low-level somatic mutation in resected epilepsy brain tissue // *Acta. Neuropathol.* 2019. V. 138. № 6. P. 901–912.
<https://doi.org/10.1007/s00401-019-02052-6>
88. *Pelorosso C., Watrin F., Conti V. et al.* Somatic double-hit in *MTOR* and *RPS6* in hemimegalencephaly with intractable epilepsy // *Hum. Mol. Genet.* 2019. V. 28. № 22. P. 3755–3765.
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddz194>
89. *Bennett M.F., Hildebrand M.S., Kayumi S. et al.* Evidence for a dual-pathway, 2-hit genetic model for focal cortical dysplasia and epilepsy // *Neurol. Genet.* 2022. V. 8. № 1. P. e652.
<https://doi.org/10.1212/NXG.0000000000000652>
90. *Ye Z., McQuillan L., Poduri A. et al.* Somatic mutation: The hidden genetics of brain malformations and focal epilepsies // *Epilepsy Res.* 2019. V. 155. P. 106161.
<https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2019.106161>
91. *Srivastava S., Love-Nichols J.A., Love-Nichols J.A. et al.* Meta-analysis and multidisciplinary consensus statement: Exome sequencing is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with neurodevelopmental disorders // *Genet. Med.* 2019. V. 21. № 11. P. 2413–2421.
<https://doi.org/10.1038/s41436-019-0554-6>
92. *Savatt J.M., Myers S.M.* Genetic testing in neurodevelopmental disorders // *Front. Pediatr.* 2021. V. 19. № 9. P. 526779.
<https://doi.org/10.3389/fped.2021.526779>

Interloci CNV Interactions in Variability of the Neurodevelopmental Disorders Phenotypes

E. O. Belyaeva^{a,*} and I. N. Lebedev^a

^a*Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center
of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, 634050 Russia*

^{*}*e-mail: elena.belyaeva@medgenetics.ru*

Most of pathogenetically significant copy number variations (CNV) are associated with neurodevelopmental phenotypes and characterized by incomplete penetrance and variable expressivity. However, the nature of these phenomena has not yet been disclosed. As a result, this leads to the uncertainty of prognosis in families with affected children having genetic variant associated with the disease, but inherited from apparently healthy parents that is a problem for genetic counseling in medicine. This review discusses the evidence for the contribution of interloci interaction between different CNV to variability of clinical manifestations of neuro-psychiatric and intellectual disorders.

Keywords: neurodevelopmental disorders, incomplete penetrance, variable expressivity, modifying factors, CNV interactions, “two-hit model”.

ОБЗОРНЫЕ
И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СТАТЬИ

УДК 575.164:575.224.232

ПЛЕЙОТРОПНЫЕ ЭФФЕКТЫ CNV В ГЕНОМЕ ЧЕЛОВЕКА¹© 2022 г. А. А. Кашеварова¹ *, Г. В. Дроздов¹, Д. А. Федотов¹, И. Н. Лебедев¹¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, 634050 Россия

*e-mail: anna.kashevarova@medgenetics.ru

Поступила в редакцию 04.04.2022 г.

После доработки 19.05.2022 г.

Принята к публикации 24.05.2022 г.

В обзоре рассматривается краткая история развития представлений о плейотропии, ее виды, анализируется распространенность плейотропных локусов в геноме человека, а также плейотропные варианты и гены внутри одной группы патологий (на примере нарушений психомоторного развития) и между заболеваниями разных систем органов. Приведены данные об ассоциации рождения ребенка с психическими отклонениями у женщины с невынашиванием беременности в анамнезе. Показана вовлеченность одних и тех же вариаций числа копий участков ДНК (CNV) в нарушения пренатального и постнатального развития. Обсуждается гипотеза о том, что данные CNV обладают плейотропными свойствами и проявляются той или иной патологией в зависимости от дополнительных модифицирующих факторов.

Ключевые слова: плейотропия, онтогенетическая плейотропия, вариации числа копий участков ДНК (DNA copy number variants, CNV), нарушение психомоторного развития, неразвивающаяся беременность.

DOI: 10.31857/S0016675822100046

Плейотропия – феномен, при котором один локус влияет на два или более явно несвязанных фенотипических признака и часто идентифицируется как одна мутация, затрагивающая два или более признаков дикого типа [1]. Первое упоминание плейотропии принадлежит немецкому генетику L. Plate, который в 1910 г. писал: “...Я называю единицу наследственности плейотропной, если от нее зависят несколько признаков; эти признаки будут, следовательно, проявляться совместно и могут, таким образом, проявлять взаимосвязь...” [2, 3].

Первая работа, посвященная изучению механизмов реализации плейотропии, принадлежит немецкому биологу Hans Gruneberg (1938). Его главный вклад состоял в разделении плейотропии на “истинную” и “ложную”. Он утверждал, что истинная плейотропия характеризуется двумя различными первичными продуктами, возникающими из одного локуса, тогда как ложная плейотропия характеризует один первичный продукт, который используется по-разному [1]. Gruneberg также предположил вторую форму ложной плейотропии, когда один первичный продукт

инициировал каскад событий с разными последствиями для фенотипа.

В 1961 г. Nadorn те же типы плейотропии обозначил как мозаичная и реляционная. Мозаичная плейотропия описывает случаи, когда один локус непосредственно влияет на несколько фенотипических признаков. Реляционная плейотропия подразумевает, что один локус инициирует каскад событий, влияющих на несколько признаков последовательно. Данный тип плейотропии соответствует второй форме ложной плейотропии Gruneberg. Созвучной мозаичной плейотропии является горизонтальная плейотропия, предложенная Tyler с коллегами, под которой авторы подразумевают множественные эффекты одного гена на одном физиологическом уровне [4]. Реляционной плейотропии у Tyler и др. соответствует вертикальная. Таким образом, классификации Gruneberg, Nadorn и Tyler описывают по сути одни и те же виды плейотропии. В настоящее время чаще используются термины “горизонтальная” и “вертикальная” плейотропия.

Одновременно с учетом таких дополнительных факторов как корреляция признаков и эффекты рекомбинации был предложен новый термин – “универсальная плейотропия”, подразумевавшая, что мутация в любом локусе может влиять почти на все признаки посредством прямого и косвенного

¹ Дополнительная информация для этой статьи доступна по doi 10.31857/S0016675822100046 для авторизованных пользователей.

воздействия [5–7]. Противоположная точка зрения состоит в том, что организмы можно разбить на модули и что плейотропия ограничивается действием внутри этих модулей, но не распространяется на организм в целом — “ограниченная плейотропия” [8].

Для оценки распространенности плейотропии в геноме Li с коллегами проанализировали сети взаимодействия белков *Saccharomyces cerevisiae*, *Drosophila melanogaster* и *Caenorhabditis elegans* [9]. Было показано, что диаметр сети (показывает, на сколько признаков в среднем влияет ген) составляет 4–5 ребер, т.е. каждый ген в трех геномах влияет в среднем на четыре или пять белков. В двух других исследованиях было показано, что число затронутых признаков на ген составляло от шести до восьми [10, 11]. Полученные в независимых работах данные подтверждают утверждение о том, что плейотропные эффекты скорее модульны, чем универсальны, а плейотропные эффекты генов связаны с небольшим числом признаков. В то же время в качестве универсального варианта плейотропии можно привести следующий пример. В ходе изучения однонуклеотидной замены у *Pseudomonas fluorescens* было показано, что исследуемая мутация повлияла на регуляцию целой генной сети, кодирующей 50 видов белков [12, 13]. В результате мутации некоторые гены в сети были активированы, а другие подавлены. Были обнаружены как синергетические, так и антагонистические взаимодействия, а итоговые изменения касались сразу нескольких модулей.

Рабу и Rockman предложили свою классификацию плейотропии [14]:

1. Молекулярно-генная плейотропия. Основана на количестве молекулярных функций белка, синтезируемого с исследуемого гена. Количество функций может быть определено по числу признаков, изменившихся в результате нокаута гена, по количеству белок-белковых взаимодействий или реакций, в которых участвует белок.

2. Плейотропия развития. Единицей является мутация. Данный тип плейотропии включает в себя подтипы: мутационный (лежит в основе разнообразных проявлений синдромов), онтогенетический (ассоциирован с аллометрией и гетерохронией) и молекулярный (основан на эффектах цис-регуляторных взаимодействий).

3. Селекционная плейотропия. Касается количества отдельных компонентов приспособленности, на которые влияет мутация. Ключевая особенность данного типа плейотропии заключается в том, что признаки определяются действием отбора, а не внутренними свойствами организма.

Одновременно исследование явления плейотропии велось в экологии и эволюции. Так, например, Williams в 1957 г. предложил гипотезу антагонистической плейотропии, подразумевая, что естествен-

ным отбором будут поддерживаться гены, которые обеспечивают качество жизни на оптимальном уровне до и в репродуктивном периоде и обуславливают старение организма после его окончания [15]. Данная теория получила развитие в современной классификации плейотропии, предложенной Albecker с соавт., которые под онтогенетической плейотропией понимали ситуацию, когда аллель и результирующий признак экспрессируются в один период жизни, но также влияют на данный или другой признак в другой период [16]. Имея в виду приспособленность, антагонистическая онтогенетическая плейотропия (АнтОП) возникает, когда компонент приспособленности, который влияет на внутростадийную приспособленность на одной стадии жизни, также влияет на внутростадийную приспособленность в противоположном направлении на другой стадии. И наоборот, синергетическая онтогенетическая плейотропия (СинОП) возникает, когда компонент приспособленности, который влияет на внутростадийную приспособленность на одном этапе жизни, позже влияет на внутростадийную приспособленность в том же направлении на другом этапе. Предполагается, что компонент приспособленности в соответствии с СинОП подвергнется положительному отбору и возможной фиксации (или потере) аллелей, влияющих на рассматриваемый компонент приспособленности. Таким образом, СинОП может: а) повысить вероятность адаптации к новой среде, поскольку благотворное влияние компонентов приспособленности, улучшающих общую приспособленность, усиливается на разных этапах жизни (и улучшает общую приспособленность), или б) снизить вероятность того, что организмы сохранятся в новой среде, если неблагоприятные эффекты распределяются между этапами жизни (что приводит к общему снижению приспособленности).

Вероятно, пролить свет на реализацию эффектов онтогенетической плейотропии может работа Geiler-Samerotte с коллегами, которые, изучая плейотропию на колониях дрожжевых клеток, показали, что корреляции между признаками могут меняться в зависимости от окружающей среды, генетического фона и стадии клеточного цикла [17]. В своей работе авторы делают вывод о том, что биологические системы демонстрируют ограниченную плейотропию в любой конкретной ситуации, но в разных условиях (например, в различных средах и на разных генетических фонах) каждое генетическое изменение может влиять на большее количество признаков.

Классификация плейотропии с точки зрения формирования заболевания у человека предложена Lee с соавт. [18]. Данная классификация опирается на уже приведенные ранее в обзоре формы.

Тип 1. Биологическая, или горизонтальная плейотропия. Один ген/генетический вариант влияет на несколько признаков. Подтипы биологической плейотропии:

1. Моногенная плейотропия – патогенный генетический вариант может быть локализован как в кодирующей, так и в некодирующей части гена. Данный тип плейотропии может иметь место, когда ген выполняет несколько различных молекулярных функций, участвует в нескольких независимых биологических процессах или экспрессируется в разных органах, тканях или пространственно-временных контекстах. Кроме того, ген может кодировать разные изоформы белков, которые отличаются структурно и функционально. Разнообразии белковых продуктов у одного гена может быть обусловлено такими механизмами, как альтернативный сплайсинг, редактирование РНК, посттрансляционные модификации белков. Более 94% генов в геноме человека кодируют изоформы белков, а альтернативный сплайсинг особенно распространен в нервной системе [19]. Примерами генов с плейотропными эффектами, ассоциированными с психиатрическими и нейрокогнитивными симптомами, являются *NRXN1* (расстройство аутистического спектра (РАС), умственная отсталость (УО)), шизофрения, синдром дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ), синдром Туретта (СТ), обсессивно-компульсивное расстройство (ОКР), биполярное расстройство (БР)), *TSC4* (шизофрения, большое депрессивное расстройство (БДР), синдром Питта-Хопкинса, УО, РАС), *DCC* (ассоциирован с восьмью психиатрическими заболеваниями), *RBFOX1* (ассоциирован со многими психиатрическими расстройствами с ранним и поздним возрастом манифестации).

2. Полигенная регуляторная плейотропия – патогенный вариант нарушает экспрессию многих генов, каждый из которых обуславливает отдельный фенотипический признак. Такой патогенный вариант может быть локализован в некодирующей области и затрагивать регуляторные элементы (энхансеры, супер-энхансеры, сайленсеры, инсуляторы и цис-eQTLs), имеющие отношение к экспрессии многих генов. Так, например, супер-энхансер *RERE* ассоциирован с шизофренией, БДР, РАС и СТ [20]. Кроме того, регуляторная плейотропия может реализовываться через изменение конформации хроматина [21]. Посредством трехмерного выпетливания хроматина удаленные некодирующие регуляторные элементы могут регулировать экспрессию целевых генов. Например, экспрессия кластера генов протокадгеринов на хромосоме 5, ассоциированных с шизофренией и БДР, регулируется элементом, расположенным удаленно.

Тип 2. Опосредованная, или вертикальная плейотропия. Генетический вариант влияет на один

признак, который, в свою очередь, влияет на следующий. Например, генетические варианты, влияющие на уровень липопротеидов низкой плотности, вторично ассоциированы с ишемической болезнью сердца [22].

Тип 3. Ложная плейотропия. Под данным типом плейотропии авторы подразумевают различные артефакты, возникшие в результате ошибок в дизайне исследования или ограничениях при определении рисков генотипов и фенотипов. На геномном уровне ложная плейотропия может возникать, когда исследуемая область содержит несколько патогенных вариантов или генов, находящихся в тесном сцеплении. В данном случае варианты или гены, обуславливающие различные нарушения через независимые биологические механизмы, могут представлять собой один “плейотропный локус”. Так, Watanabe с коллегами показали, что регион главного комплекса гистосовместимости, в котором более 300 генов тесно сцеплены в протяженные блоки неравновесия по сцеплению, ассоциирован с более 200 фенотипами [23]. В то же время детальный анализ показал, что более трети обнаруженных ассоциаций с данным регионом являлись ложноположительными. Кроме того, ложная плейотропия может возникать в результате неправильной постановки диагноза (некоторые случаи БР могут быть ошибочно диагностированы как БДР), нераспознанной коморбидности фенотипов, ошибок в формировании контрольной группы.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ПЛЕЙОТРОПНЫХ ЛОКУСОВ В ГЕНОМЕ ЧЕЛОВЕКА

Активное получение и всесторонний анализ данных полногеномных ассоциативных исследований (Genome-Wide Association Study, GWAS) привели к накоплению свидетельств о широкой распространенности плейотропии в геноме человека [23, 24]. Метаанализ плейотропных вариантов для более 500 сложных признаков показал, что около 180 Мб генома человека представляют собой плейотропные локусы [24], доля которых варьирует от 23 [25] до 60% [23]. Данные различия могут быть обусловлены количеством анализируемых признаков (41 и 558 признаков соответственно), а также критериями обозначения функциональных доменов, включающих анализируемые признаки. Высокоплейотропные варианты обычно связаны с широко экспрессируемыми генами с универсальными функциями, такими как компоненты матрисомы, генами онтогенетических и иммунологических систем, а также регуляторов роста клеток [24]. В своем исследовании Shikov с соавт. показали, что плейотропия на уровне белка из-за повсеместно экспрессируемых генов является наиболее распространенной формой. Это согласуется с общепризнанной при-

Таблица 1. Генетические корреляции между психиатрическими заболеваниями (по [18])

| Заболевания | БДР | БР | РАС | СДВГ | Шизофрения |
|-------------|-----|--------------|-----|--------------|--------------|
| БДР | | $r_g = 0.47$ | | $r_g = 0.37$ | $r_g = 0.43$ |
| БР | | | | | $r_g = 0.68$ |
| РАС | | | | | $r_g = 0.16$ |
| СДВГ | | | | | |
| Шизофрения | | | | | |

Примечание. БДР – большое депрессивное расстройство, БР – биполярное расстройство, РАС – расстройства аутистического спектра, СДВГ – синдром дефицита внимания и гиперактивности, r_g – коэффициент генетической корреляции.

частью общих метаболических путей к плейотропным эффектам [26].

Итак, Novo с коллегами на данных Каталога NHGRI-EBI GWAS с использованием статистических методов анализа обнаружили 629 плейотропных локусов (23%), ассоциированных с 41 заболеванием [25]. Наибольшее количество плейотропных локусов обнаружено в желудочно-кишечном, скелетном и сердечно-сосудистом функциональных доменах (62, 61 и 60% соответственно), тогда как меньше всего – в неврологическом/ психиатрическом домене (18%). Авторы показали, что чем выше степень плейотропии, тем меньше локусов, а также что один плейотропный локус может быть ассоциирован максимум с 12 признаками (дихотомические и количественные признаки).

Таким образом, в настоящее время плейотропию можно рассматривать на уровне отдельных вариантов генов, собственно генов, целых локусов, охватывающих несколько генов, и биологических путей. Множественные патогенные варианты внутри гена могут обуславливать плейотропию, когда, например, каждый вариант влияет на разные фенотипы. Гены, в свою очередь, участвуют в сетях или путях более высокого уровня, которые также могут вносить вклад во множественные фенотипы. Наконец, совокупные плейотропные эффекты генетического варианта, гена и биологического пути могут привести к генетической корреляции между двумя или более фенотипами [20].

РОЛЬ ПЛЕЙОТРОПНЫХ ЛОКУСОВ В НАРУШЕНИИ ПСИХИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ

Традиционно плейотропию рассматривают в рамках одной группы патологий (например, при нарушениях психического развития), реже – разных, но, очевидно, взаимосвязанных (нарушения обмена (липидов) и заболевания сердечно-сосудистой системы), поэтому неудивительно, что описываемые в такого плана исследованиях плейотропные гены в большинстве случаев имеют узкоспецифичные функции.

В первое крупномасштабное исследование генетических корреляций между психиатрическими заболеваниями, проводимое в рамках Консорциума по психиатрической геномике (КПГ), были включены пять основных психиатрических заболеваний (БДР, БР, РАС, СДВГ, шизофрения) [18, 27]. Обнаруженные генетические корреляции представлены в табл. 1. Показано, что 75% патогенных генетических вариантов являются общими между БР и шизофренией [28]. При анализе обогащения генов, ассоциированных с данными заболеваниями, впервые установлена роль широкого спектра генов, участвующих в передаче сигналов по кальциевым каналам; данный путь был вовлечен в развитие РАС, СДВГ, БДР, БР и шизофрении [27]. Позже исследуемая выборка была расширена и между БР, БДР и шизофренией выявлено 49 общих путей [29]. Кластеризация этих путей обнаружила три биологических направления: метилирование гистонов, синаптическая передача и иммунные и нейротрофические пути. В более крупном исследовании, объединившем восемь патологий [20], было показано, что плейотропные локусы значительно обогащены генами, связанными с развитием нервной системы, а также передачей сигналов глутаматных рецепторов и потенциал-зависимых кальциевых каналов.

Метаанализ GWAS, в который было включено 727 126 индивидов с диагнозами РАС, СДВГ, СТ, ОКР, БДР, БР и шизофрения, показал, что 109 независимых локусов являются плейотропными, включая 23 гена, ассоциированных с пятью и более заболеваниями [20]. Наиболее высокоплейотропным оказался ген *DDC* (ген рецептора нетрин-1), играющий ключевую роль в направлении роста аксонов во время развития нейрона [30] и в созревании мезолимбических дофаминергических связей с префронтальной корой в подростковом возрасте [31]. Функциональный анализ показал, что плейотропными являются гены, большинство из которых высоко экспрессируются, начиная со второго триместра беременности, и

обогащены во фронтальных корковых нейронах, главным образом глутаматергических.

O'Donovan и Owen показали, что в большинстве случаев плейотропия, наблюдаемая между различными психиатрическими диагнозами и между психическими расстройствами и когнитивными нарушениями, является истинной аллельной плейотропией [32]. Полученные данные свидетельствуют о том, что УО, РАС, СДВГ и шизофрения представляют собой прямые результаты одних и тех же редких патогенных генетических вариантов.

Более того, показано, что некоторые плейотропные локусы ассоциированы не только с заболеваниями психомоторного континуума, но и с патологиями других систем организма. Например, кодирующий миссенс-вариант (rs13107325 C>T, A391T) в гене белка-транспортера марганца *SLC639A8* ассоциирован не только с шизофренией, но и с аномальными артериальным давлением и уровнем липидов в крови, болезнью Крона и другими [33]. Высокая плейотропность данной мутации, вероятно, обусловлена участием гена в регуляции уровня марганца, являющегося ко-фактором ферментов гликозилирования, которые, в свою очередь, участвуют во многих биологических путях в клетке [34].

Известно, что многочисленные физиологические изменения, связанные с нормальным старением, происходят раньше у людей с шизофренией, включая преждевременное начало других заболеваний, укорочение теломера, усиление воспалительных процессов и окислительный стресс [35]. Анализ данных GWAS, проведенный Muntané с коллегами показал, что особенности генома, лежащие в основе шизофрении и БР, также влияют на продолжительность жизни, особенно в случае шизофрении [36]. Авторы выявили 39 локусов, ассоциированных одновременно с шизофренией и продолжительностью жизни, и 8 локусов – с биполярным расстройством и продолжительностью жизни. Только два локуса были общими между этими парами (гены *HSPA9* и *SYNE1*). Анализ обогащения всех SNP, имеющих значение $\text{conjFDR} < 0.05$ в локусах, общих для шизофрении и продолжительности жизни ($n = 769$), достоверно значимыми показал биологические пути связывания ацетилхолина и никотиновый путь. Примечательно, что данный результат анализа обогащения обусловлен агонистическими локусами, в то время как антагонистические локусы показали обогащение в путях, ассоциированных со связыванием инозитола, хотя и незначительное после введения поправки на множественное сравнение (FDR).

АССОЦИАЦИЯ МЕЖДУ ПСИХИЧЕСКИМИ НАРУШЕНИЯМИ У РЕБЕНКА И НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ У ЕГО МАТЕРИ

Установлено, что проблемы с фертильностью у матери могут быть связаны с факторами, которые также влияют на развитие нервной системы и риск СДВГ у ее детей [37, 38]. Что может лежать в основе этих двух, казалась бы, не имеющих ничего общего патологий? Наиболее частой причиной нарушения эмбриогенеза являются числовые аномалии хромосом, в то же время причина гибели примерно 50% эмбрионов остается неустановленной. В связи с этим уже на протяжении многих лет активно ведется поиск эмбриолетальных структурных хромосомных аномалий – вариаций числа копий участков ДНК (DNA copy number variation, CNV) [39–51]. Этиология СДВГ не менее сложная. В большинстве случаев причины нарушений неизвестны, однако показана ассоциация многих патогенных CNV с данным диагнозом [52, 53]. Растущий объем данных свидетельствует о роли “фетального программирования” в развитии СДВГ [54]. Так, например, пренатальное воздействие неблагоприятной внутриутробной среды может привести к повышенной восприимчивости к нарушениям развития нервной системы в более позднем возрасте [55]. Известно, что у женщин с невынашиванием беременности (НБ) чаще развиваются осложнения, такие как гестационный диабет [56], нарушение плацентации [57] и повышенный окислительный стресс [58], которые могут predisposing их детей к развитию СДВГ [59]. Для женщин со спонтанными абортми (СА) в анамнезе часто характерны преждевременные роды, рождение детей с низкой массой тела, врожденными аномалиями и более низкой оценкой по шкале Апгар [60], которые, как было показано, являются факторами риска развития СДВГ [61, 62]. Показана ассоциация между НБ и эпилепсией [63]. Более того, установлено, что риск неблагоприятных исходов беременности повышается с увеличением числа СА [60, 64]. Выявлена связь между привычным невынашиванием беременности (ПНБ) у женщины и задержкой развития, включая УО, у ее ребенка [65]. Частота таких семей в работе Paz Levy с коллегами составила 0.5–3%.

В популяционном исследовании, в которое было включено 1062667 детей, показано, что 130206 из них (12.2%) родились от матерей с одним (112995, 10.6%) и более (17211, 1.6%) СА в анамнезе [66]. Такие дети в большинстве случаев были недоношенными, имели низкий вес при рождении и родителем более старшего возраста. Частота психических заболеваний ни у кого из самих родителей не различалась между группами со спонтанным абортми в анамнезе и без него, в то же время частота сахар-

Таблица 2. Ассоциация между психическими нарушениями у ребенка и невынашиванием беременности у его матери

| Число обследованных детей | Невынашивание беременности у матери | | |
|---------------------------|--|--------------|-------------|
| | Без СА | 1 СА | >1 СА |
| 1062667 (по [66]) | 932461 | 130206 | |
| | | 112995 | 17211 |
| Число детей с СДВГ | 22106 (2.37%) | 3641 (2.8%) | |
| | | 3087 (2.73%) | 554 (3.22%) |
| Отношение шансов | OR = 1.18 (1.14–1.23), $p < 0.01$ | | |
| 1778786 (по [72]) | 1366542 | 412244 | |
| | | 314394 | 97850 |
| Число детей с УО | 6895 (0.5%) | 2756 (0.67%) | |
| | | 1997 (0.64%) | 759 (0.78%) |
| Отношение шансов | OR = 1.33 (1.27–1.39), $p < 0.01$ | | |

Примечание. СА – спонтанный аборт, СДВГ – синдром дефицита внимания и гиперактивности, УО – умственная отсталость. Отношения шансов рассчитаны в ходе написания данного обзора по результатам работ [66] и [72].

ного диабета у матерей повышалась с ростом числа СА. Диагноз СДВГ был поставлен 25747 детям, и выявлена ассоциация между данным диагнозом у ребенка и невынашиванием беременности у его матери (табл. 2). Авторы указывают, что наблюдаемые ими ассоциации не зависят от таких факторов, как социально-экономический статус матери, тип СА (анэмбриония, неразвивающаяся беременность, собственно спонтанный аборт), психические расстройства у родителей в анамнезе, характеристики беременности (статус курения матери, инфекции, диабет, гипотиреоз) и исходы родов (низкая масса тела при рождении, преждевременные роды, низкая оценка по шкале Апгар). Wang с коллегами предполагают два возможных пути развития наблюдаемых ассоциаций. Во-первых, женщины с СА в анамнезе чаще испытывают повышенный уровень стресса при следующей беременности [67], активирующий гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковый механизм [68], что может нарушать функцию плаценты и подавлять активность плацентарного 11β -HSD-2, снижая защиту этого “барьера” [69]. В результате этого повышенный материнский кортизол может проникать через плаценту, что приводит к повышению уровня кортизола в кровотоке плода. Повышенный уровень кортизола плода может негативно сказываться на развитии мозга плода, приводя к повышенному риску любых психических расстройств, включая гиперактивные, поведенческие и эмоциональные расстройства в более позднем возрасте [55, 70]. Второй потенциальный биологический путь может быть обусловлен гипоксическим статусом во время беременности в результате предшествующего СА [71]. Гипоксические состояния

имеют неблагоприятные последствия для развития мозга плода и связаны с повышенным риском развития СДВГ у детей [59].

В другое исследование были включены 1778786 детей, у 314394 (17.7%) и 97850 (5.5%) матерей которых имелись один и несколько спонтанных аборт в анамнезе соответственно [72]. Для группы с невынашиванием беременности были характерны преждевременные роды, низкий вес новорожденного и более низкий балл по шкале Апгар. Матери этой группы были старше, имели более низкий уровень образования, чаще курили, чаще страдали от интеллектуальных нарушений и гипотиреоза. Отцы также были старше, и у них чаще были диагностированы интеллектуальные нарушения. У 9651 ребенка в возрасте до 18 лет была диагностирована УО. В ходе статистического анализа установлена ассоциация между нарушением интеллектуального развития у ребенка и невынашиванием беременности у его матери (табл. 2). Эти данные свидетельствуют о том, что общая генетическая предрасположенность или общая среда могут обуславливать данные патологии. Например, питание матери может влиять как на вынашивание беременности, так и на когнитивное развитие детей. Более высокое потребление женщиной фолиевой кислоты до беременности связано с уменьшением риска самопроизвольного аборта [73], при этом прием поливитаминов, включая фолиевую кислоту, во время беременности обратно пропорционален развитию расстройств аутистического спектра и умственной отсталости [74].

ПЛЕЙОТРОПИЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ ЧИСЛА КОПИЙ УЧАСТКОВ ДНК (CNV)

В истории изучения плейотропии уже поднимался вопрос, что является минимальной единицей плейотропии — однонуклеотидный вариант в гене или собственно сам ген [75]? Активное выявление патогенных микроструктурных хромосомных aberrаций при разных формах патологий на разных этапах онтогенеза предлагает еще один тип единицы плейотропии — регион, подвергшийся изменению копийности (CNV). В то же время как определить обладает ли сам регион плейотропными свойствами или наблюдаемый эффект обусловлен сочетанием плейотропных свойств совокупности генов, локализованных в нем? Что обуславливает эффект плейотропии целого региона? Реализуется ли она через полярное изменение копийности региона — делеции/амплификации или каким-то другим способом? Или в результате CNV нарушаются такие биологические процессы, которые, вероятно, являются общими для разных систем органов и важны по своему на разных этапах онтогенеза? Окончательный фенотип при наличии CNV, вероятно, зависит как от генетического и эпигенетического фона, так и от воздействия окружающей среды [76, 77]. Дополнительные генетические факторы могут включать защитные гены или гены, усиливающие заболевание. CNV также могут модулировать экспрессию генов за пределами удаленной или дублированной области путем добавления или удаления регуляторных элементов либо путем модификации трехмерной структуры генома [78]. Онтогенетическая плейотропия CNV также, вероятно, может быть обусловлена межклеточным распределением клеток с микроструктурным хромосомным вариантом. В таком случае патогенного эффекта можно ожидать в той ткани или органе, где оказались клетки с aberrацией, затрагивающей ген или гены, регулирующие важные общие биологические процессы.

Вариации числа копий участков ДНК занимают до 13% генома человека [79]. При этом их значительная часть встречается у многих индивидов, являясь полиморфизмом, и не имеет негативных клинических последствий [80]. В то же время CNV могут приводить к нарушению психомоторного развития, различным неврологическим, соматическим патологиям, а также к онкологическим заболеваниям [81]. *De novo* и унаследованные патогенные CNV выявляются примерно у 15% пациентов с нарушениями психомоторного развития [82]. До 9% случаев расстройств аутистического спектра [83] и 2.5% шизофрении обусловлены патогенными CNV [84]. Интересно, что у носителей патогенных CNV повышена частота выявления дополнительных коморбидных состояний [85], а также измененных антропометрических данных

[86, 87]. Кроме того, такой высокий уровень заболеваемости часто сочетается со снижением репродуктивных функций [88].

CNV не всегда обладают диагностической специфичностью и могут приводить к разнообразным исходам, что, вероятно, можно обозначить термином “плейотропия”. Например, микроделеция 22q11.2 может приводить к врожденным дефектам развития, шизофрении, расстройствам аутистического спектра, интеллектуальным нарушениям, эпилепсии или болезни Паркинсона с ранним началом [88–91]. В то же время у женщин-носительниц данной микроделеции повышен риск невынашивания беременности [72, 92].

Метаанализ 10314 плодов из восьми крупных исследований показал, что CNV, ассоциированные с синдромами с ранней манифестацией, встречаются с частотой 1 : 270 (0.37%) беременностей; CNV, ассоциированные с болезнями с поздним началом, — 1 : 909 (0.11%); CNV, обуславливающие предрасположенность к некоторым патологиям, — 1 : 333 (0.3%) [93]. Патогенные CNV выявляются у 6–7% плодов с аномалиями развития, выявляемыми при ультразвуковом обследовании. К системам органов, наиболее часто связанным с аномальными результатами хромосомного микроматричного анализа, относятся сердечно-сосудистая, выделительная, скелетная, мочеполовая и центральная нервная системы [94].

При обобщении Chau с коллегами собственных и литературных данных, полученных в ходе пренатальной диагностики беременных женщин, патогенные CNV (<10 Mb) были обнаружены у 375 из 23865 (1.6%) плодов [95]. Их частота в группе высокого риска (аномальные результаты ультразвукового обследования, высокий риск скрининга на анеуплоидии, наличие в семье ребенка с хромосомной патологией, высокий риск по неинвазивному пренатальному скринингу) составила 258/9296 (2.8%, 1 из 36) и оказалась значительно выше, чем 117/14569 (0.8%, 1 из 125) в группе низкого риска (большой возраст матери, тревожность матери) ($p < 0.001$). Частота патогенных CNV у плодов с пороками развития, выявленными с помощью УЗИ, составляет 4.1% (191/4699), а при отсутствии пороков — 1.0% (184/19166). Беременности с высоким риском хромосомных аномалий по результатам скрининговых тестов и семейному анамнезу демонстрировали самую высокую частоту патогенных CNV у плода.

Среди наиболее распространенных врожденных пороков развития, ассоциированных с CNV, расщелина неба встречается у одного из 700 живорожденных. В зависимости от времени возникновения дефекта в эмбриогенезе результатом является либо только расщелина губы, губы и неба, либо только расщелина неба. Расщелины полости рта могут быть несиндромальными, что со-

ставляет до 70% случаев, или синдромальными, если имеются сопутствующие врожденные аномалии [96, 97]. Среди случаев синдромальной расщелины полости рта аномалии ЦНС (44.4%), мышечные и скелетные дефекты (34.7%), пороки сердца (32.6%) встречались наиболее часто [98].

Итак, патогенные CNV, впервые описанные и ассоциированные главным образом с нарушениями психомоторного развития в постнатальном периоде онтогенеза, выявляются и на пренатальном этапе развития — у плодов с пороками и у спонтанных абортусов I триместра беременности. Случайность ли это? Обобщенные данные для наиболее частых синдромальных структурных хромосомных aberrаций, обнаруженных во всех трех указанных группах, приведены в таблице Приложения. Среди CA I триместра беременности синдромальные CNV встречаются с частотой 1 : 702—1 : 7726. Наиболее частой (1 : 702) является микроделеция 22q11.2, ассоциированная с синдромом Ди Джорджи. При этом ее частота среди плодов с U3-маркерами хромосомной патологии составляет 1 : 100. Большинство плодов при этом имеют тяжелые структурные аномалии сердца. Сопоставимой является распространенность микроделеции 22q11.2 (1 : 99—169) среди пациентов с нарушением психомоторного развития, лицевыми дисморфиями и ВПР.

В связи с представленными в таблице Приложения данными возникает вопрос: а что если CNV обладают плейотропными свойствами не только в пределах одной группы патологий (нарушения психического и психомоторного развития) в постнатальном периоде, но и на разных этапах онтогенеза? Возможно, существует онтогенетическая плейотропия CNV, проявляющаяся на протяжении всего онтогенеза от момента оплодотворения и в зависимости от генетического, эпигенетического или средового фона приводящая к невынашиванию беременности, формированию тяжелых (часто не совместимых с жизнью) пороков развития у плода или нарушению постнатального развития. Очевидно, что в пренатальном периоде реализация эффектов некоторой мутации будет более сложной, поскольку она опосредована не только собственным генетическим фоном плода, но и внешней средой, воздействие которой опосредуется организмом матери, ее геномом и эпигеномом.

Привлекая к обсуждению классификации плейотропии, предложенные ранее, плейотропию CNV можно отнести к горизонтальному [4], или биологическому типу (полигенный регуляторный подтип) [18], поскольку данный тип микроструктурной хромосомной изменчивости влияет одновременно на несколько признаков/систем органов. Учитывая множественность эффектов патогенных (синдромальных) CNV, их можно рассматривать

в рамках универсальной плейотропии [5]. Несомненно, к CNV, проявляющимся как в пренатальном периоде развития, так и в постнатальном, также применима категория плейотропии развития (мутационный подтип) [14] или онтогенетической плейотропии [16].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Более 100 лет назад было впервые дано определение феномена плейотропии, заключающегося во влиянии одного генетического локуса на несколько несвязанных признаков. С тех пор и до настоящего времени было предложено множество различных классификаций, которые зачастую, имея разные наименования, подразумевали одно и то же явление (истинная, мозаичная, горизонтальная, биологическая либо ложная, реляционная, вертикальная, опосредованная плейотропия). Век спустя благодаря развитию генетических, молекулярных и гено-инженерных методов исследования, а также совершенствованию биоинформационного анализа предложенные классификации стали заметно усложняться.

Традиционно плейотропные свойства некоторого локуса рассматриваются на протяжении постнатального этапа онтогенеза, при этом, как правило, оценивается одновременное или достаточно близкое по времени изменение признаков (в случае горизонтальной плейотропии). Лишь только онтогенетическая плейотропия учитывает проявление генов на протяжении всей жизни индивида (репродуктивный период и старость). Однако не одна из существующих гипотез плейотропии не принимает во внимание пренатальный этап онтогенеза, когда впервые запускаются многие важные гены с достаточно универсальными функциями. Именно такие гены в большей степени обладают плейотропным эффектом. Предположить новый вид онтогенетической плейотропии, объединяющий пренатальный и постнатальный периоды развития, позволяют популяционные данные о рождении ребенка с нарушением психического развития у женщин, имеющих невынашивание беременности в анамнезе. В основе обеих патологий (нарушения эмбрионального и психического развития) могут лежать общие генетические факторы, которые под влиянием дополнительных генетических, эпигенетических или средовых модификаторов будут приводить либо к эмбриональной гибели, либо к рождению больного ребенка. Учитывая обнаружение одних и тех же патогенных микроструктурных хромосомных aberrаций (CNV) у спонтанных абортусов I триместра беременности, у плодов с тяжелыми пороками развития и у детей с нарушением психомоторного развития, данный вид хромосомной изменчивости вполне может обладать плейотропными свойствами. Следовательно, можно говорить о новой единице данного

феномена – CNV и о существовании онтогенетической плейотропии CNV, описывающей проявление хромосомного варианта на протяжении всего индивидуального развития организма.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-65-00017, <https://rscf.ru/project/21-65-00017/>.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Stearns F.W.* One hundred years of pleiotropy: A retrospective // *Genetics*. 2010. V. 186. № 3. P. 767–773. <https://doi.org/10.1534/genetics.110.122549>
2. *McKusick V.A.* Pleiotropism // *Am. J. Hum. Genet.* 1976. V. 28. № 3. P. 301.
3. *Кучер А.Н., Бабушкина Н.П., Буйкин С.В., Пузырев В.П.* Плейотропные эффекты генов предрасположенности многофакторным заболеваниям // *Мол. медицина*. 2013. Т. 2. P. 13–23.
4. *Tyler A.L., Asselbergs F.W., Williams S.M., Moore J.H.* Shadows of complexity: What biological networks reveal about epistasis and pleiotropy // *Bioessays*. 2009. V. 31. № 2. P. 220–227. <https://doi.org/10.1002/bies.200800022>
5. *Fisher R.A.* *The Genetical Theory of Natural Selection*. Oxford: The Clarendon Press, 1930. 318 p.
6. *Mayr E.* *Animal Species and Evolution*. Cambridge, MA: The Bellknap Press Harvard Univ. Press, 1963. 797 p.
7. *Wright S.* *Genetic and Biometric Foundations*. Chicago: Univ. Chicago Press, 1968. 480 p.
8. *Welch J.J., Waxman D.* Modularity and the cost of complexity // *Evolution*. 2003. V. 57. P. 1723–1734. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2003.tb00581.x>
9. *Li R.H., Tsaih S.W., Shockley K. et al.* Structural model analysis of multiple quantitative traits // *PLoS Genet.* 2006. V. 2. P. 1046–1057. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0020114>
10. *Wagner G.P., Kenney-Hunt J.P., Pavlicev M. et al.* Pleiotropic scaling of gene effects and the ‘cost of complexity’ // *Nature*. 2008. V. 452. P. 470–472. <https://doi.org/10.1038/nature06756>
11. *Su Z., Zeng Y., Gu X.* A preliminary analysis of gene pleiotropy estimated from protein sequences // *J. Exp. Zool.* 2009. V. 312B. P. 1–10. <https://doi.org/10.1002/jez.b.21315>
12. *Maclean R.C., Bell G., Rainey P.B.* The evolution of a pleiotropic fitness tradeoff in *Pseudomonas fluorescens* // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2004. V. 101. P. 8072–8077. <https://doi.org/10.1073/pnas.0307195101>
13. *Knicht C.G., Zitzmann N., Prabhakar S. et al.* Unraveling adaptive evolution: How a single point mutation affects the protein coregulation network // *Nat. Genet.* 2006. V. 200638. P. 1015–1022. <https://doi.org/10.1038/ng1867>
14. *Paaby A.B., Rockman M.V.* The many faces of pleiotropy // *Trends Genet.* 2013. V. 29. № 2. P. 66–73. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2012.10.010>
15. *Williams G.C.* Pleiotropy, natural selection, and the evolution of senescence // *Evolution*. 1957. V. 11. P. 398–411.
16. *Albecker M.A., Wilkins L.G., Krueger-Hadfield S.A. et al.* Does a complex life cycle affect adaptation to environmental change? Genome-informed insights for characterizing selection across complex life cycle // *Proc. Biol. Sci.* 2021. 288: 20212122. <https://doi.org/10.1098/rspb.2021.2122>
17. *Geiler-Samerotte K.A., Li S., Lazaris C. et al.* Extent and context dependence of pleiotropy revealed by high-throughput single-cell phenotyping // *PLoS Biol.* 2020. 18(8): e3000836. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000836>
18. *Lee P.H., Feng Y.C.A., Smoller J.W.* Pleiotropy and cross-disorder genetics among psychiatric disorders // *Biol. Psychiatry*. 2021. V. 89. № 1. P. 20–31. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2020.09.026>
19. *Raj B., Blencowe B.J.* Alternative splicing in the mammalian nervous system: Recent insights into mechanisms and functional roles // *Neuron*. 2015. V. 87. № 1. P. 14–27. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.05.004>
20. *Lee P.H., Anttila V., Won H. et al.* Genomic relationships, novel loci, and pleiotropic mechanisms across eight psychiatric disorders // *Cell*. 2019. V. 179. № 7. P. 1469–1482. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.11.020>
21. *Krijger P.H.L., De Laat W.* Regulation of disease-associated gene expression in the 3D genome // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2016. V. 17. № 12. P. 771–782. <https://doi.org/10.1038/nrm.2016.138>
22. *Voight B.F., Peloso G.M., Orho-Melandar M. et al.* Plasma HDL cholesterol and risk of myocardial infarction: A mendelian randomisation study // *Lancet*. 2012. V. 380. № 9841. P. 572–580. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60312-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60312-2)
23. *Watanabe K., Stringer S., Frei O. et al.* A global overview of pleiotropy and genetic architecture in complex traits // *Nat. Genet.* 2019. V. 51. № 9. P. 1339–1348. <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0481-0>
24. *Shikov A.E., Skitchenko R.K., Predeus A.V., Barbitoff Y.A.* Phenome-wide functional dissection of pleiotropic effects highlights key molecular pathways for human complex traits // *Sci. Rep.* 2020. 10: 1037. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58040-4>
25. *Novo I., López-Cortegano E., Caballero A.* Highly pleiotropic variants of human traits are enriched in genomic regions with strong background selection // *Hum. Genet.* 2021. V. 140. № 9. P. 1343–1351. <https://doi.org/10.1007/s00439-021-02308-w>
26. *Kacser H., Burns J.A.* The molecular basis of dominance // *Genetics*. 1981. V. 97. № 3–4. P. 639–666. <https://doi.org/10.1093/genetics/97.3-4.639>
27. *Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium.* Identification of risk loci with shared effects on five major psychiatric disorders: A genome-

- wide analysis // *Lancet*. 2013. V. 381. № 9875. P. 1371–1379.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)62129-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)62129-1)
28. *Frei O., Holland D., Smeland O.B. et al.* Bivariate causal mixture model quantifies polygenic overlap between complex traits beyond genetic correlation // *Nat. Commun.* 2019. 10: 2417.
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-10310-0>
 29. Network and Pathway Analysis Subgroup of the Psychiatric Genomics Consortium. Psychiatric genome-wide association study analyses implicate neuronal, immune and histone pathways // *Nat. Neurosci.* 2015. V. 18. № 2. 199–209.
<https://doi.org/10.1038/nn.3922>
 30. *Liu Y., Bhowmick T., Liu Y. et al.* Structural basis for Draxin-Modulated Axon guidance and fasciculation by Netrin-1 through DCC // *Neuron*. 2018. V. 97. № 6. P. 1261–1267.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.02.010>
 31. *Vosberg D.E., Zhang Y., Menegaux A. et al.* Mesocorticolimbic connectivity and volumetric alterations in DCC mutation carriers // *J. Neurosci.* 2018. V. 38. № 20. P. 4655–4665.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3251-17.2018>
 32. *O'Donovan M.C., Owen M.J.* The implications of the shared genetics of psychiatric disorders // *Nat. Med.* 2016. V. 22. № 11. P. 1214–1219.
<https://doi.org/10.1038/nm.4196>
 33. *Costas J.* The highly pleiotropic gene *SLC39A8* as an opportunity to gain insight into the molecular pathogenesis of schizophrenia // *Am. J. Med. Genet. B: Neuropsychiatr. Genet.* 2018. V. 177. № 2. P. 274–283.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32545>
 34. *Mealer R.G., Williams S.E., Daly M.J. et al.* Glycobiology and schizophrenia: A biological hypothesis emerging from genomic research // *Mol. Psychiatry.* 2020. V. 25. № 12. P. 3129–3139.
<https://doi.org/10.1038/s41380-020-0753-1>
 35. *Kirkpatrick B., Kennedy B.K.* Accelerated aging in schizophrenia and related disorders: Future research // *Schizophr. Res.* 2018. V. 196. P. 4–8.
<https://doi.org/10.1016/j.schres.2017.06.034>
 36. *Muntané G., Farré X., Bosch E. et al.* The shared genetic architecture of schizophrenia, bipolar disorder and lifespan // *Hum. Genet.* 2021. V. 140. № 3. P. 441–455.
<https://doi.org/10.1007/s00439-020-02213-8>
 37. *Bay B., Mortensen E.L., Hvidtjorn D., Kesmodel U.S.* Fertility treatment and risk of childhood and adolescent mental disorders: register based cohort study // *BMJ*. 2013. 347.
<https://doi.org/10.1136/bmj.f3978>
 38. *Svahn M.F., Hargreave M., Nielsen T.S.S. et al.* Mental disorders in childhood and young adulthood among children born to women with fertility problems // *Hum. Reprod.* 2015. V. 30. № 9. P. 2129–2137.
<https://doi.org/10.1093/humrep/dev172>
 39. *Rajcan-Separovic E., Qiao Y., Tyson C. et al.* Genomic changes detected by array CGH in human embryos with developmental defects // *Mol. Hum. Reprod.* 2010. V. 16. № 2. P. 125–134.
<https://doi.org/10.1093/molehr/gap083>
 40. *Rajcan-Separovic E., Diego-Alvarez D., Robinson W.P. et al.* Identification of copy number variants in miscarriages from couples with idiopathic recurrent pregnancy loss // *Hum. Reprod.* 2010. V. 25. № 11. P. 2913–2922.
<https://doi.org/10.1093/humrep/deq202>
 41. *Viaggi C.D., Cavani S., Malacarne M. et al.* First-trimester euploid miscarriages analysed by array-CGH // *J. Appl. Genet.* 2013. V. 54. № 3. P. 353–359.
<https://doi.org/10.1007/s13353-013-0157-x>
 42. *Levy B., Sigurjonsson S., Pettersen B. et al.* Genomic imbalance in products of conception: Single-nucleotide polymorphism chromosomal microarray analysis // *Obstet. Gynecol.* 2014. V. 124. № 2. P. 202–209.
<https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000000325>
 43. *Wang B.T., Chong T.P., Boyar F.Z. et al.* Abnormalities in spontaneous abortions detected by G-banding and chromosomal microarray analysis (CMA) at a national reference laboratory // *Mol. Cytogenet.* 2014.
<https://doi.org/10.1186/1755-8166-7-33>
 44. *Sato T., Migita O., Hata H. et al.* Analysis of chromosome microstructures in products of conception associated with recurrent miscarriage // *Reprod. Biomed. Online.* 2019. V. 38. № 5. P. 787–795.
<https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2018.12.010>
 45. *Liu S., Song L., Cram D.S. et al.* Traditional karyotyping vs copy number variation sequencing for detection of chromosomal abnormalities associated with spontaneous miscarriage // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2015. V. 46. № 4. P. 472–477.
<https://doi.org/10.1002/uog.14849>
 46. *Zhou Q., Wu S.Y., Amato K. et al.* Spectrum of cytogenomic abnormalities revealed by array comparative genomic hybridization on products of conception culture failure and normal karyotype samples // *J. Genet. Genomics.* 2016. V. 43. № 3. P. 121–131.
<https://doi.org/10.1016/j.jgg.2016.02.002>
 47. *Wang Y., Li Y., Chen Y. et al.* Systematic analysis of copy-number variations associated with early pregnancy loss // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2020. V. 55. № 1. P. 96–104.
<https://doi.org/10.1002/uog.20412>
 48. *Rosenfeld J.A., Tucker M.E., Escobar L.F. et al.* Diagnostic utility of microarray testing in pregnancy loss // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2015. V. 46. № 4. P. 478–486.
<https://doi.org/10.1002/uog.14866>
 49. *Kasak L., Rull K., Söber S., Laan M.* Copy number variation profile in the placental and parental genomes of recurrent pregnancy loss families // *Sci. Rep.* 2017. № 7.
<https://doi.org/10.1038/srep45327>
 50. *Luo S., Chen X., Yan T. et al.* Application of copy number variation sequencing in genetic analysis of miscarriages in early and middle pregnancy // *Cytogenet. Genome Res.* 2020. V. 160. № 11–12. P. 634–642.
<https://doi.org/10.1159/000512801>
 51. *Кашеварова А.А., Скрыбин Н.А., Никитина Т.В. и др.* Онтогенетическая плеiotропия генов, вовлечен-

- ных в CNV у спонтанных абортусов человека // Генетика. 2019. Т. 55. № 10. С. 1158–1171.
52. *Zarrei M., Burton C.L., Engchuan W. et al.* A large data resource of genomic copy number variation across neurodevelopmental disorders // *NPJ Genom. Med.* 2019. 4:26. <https://doi.org/10.1038/s41525-019-0098-3>
 53. *Baccarin M., Picinelli C., Tomaiuolo P. et al.* Appropriateness of array-CGH in the ADHD clinics: A comparative study // *Genes Brain Behav.* 2020. 19:e12651. <https://doi.org/10.1111/gbb.12651>
 54. *Sciberras E., Mulraney M., Silva D., Coghill D.* Prenatal risk factors and the etiology of ADHD – review of existing evidence // *Curr. Psychiatry Rep.* 2017. 19:1. <https://doi.org/10.1007/s11920-017-0753-2>
 55. *Bale T.L., Baram T.Z., Brown A.S. et al.* Early life programming and neurodevelopmental disorders // *Biol. Psychiatry.* 2010. V. 68. № 4. P. 314–319. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.05.028>
 56. *Bhattacharya S., Townend J., Shetty A. et al.* Does miscarriage in an initial pregnancy lead to adverse obstetric and perinatal outcomes in the next continuing pregnancy? // *BJOG.* 2008. V. 115. № 13. P. 1623–1629. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2008.01943.x>
 57. *Gunnarsdottir J., Stephansson O., Cnattingius S. et al.* Risk of placental dysfunction disorders after prior miscarriages: A population-based study // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2014. 211:34.e1-8. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2014.01.041>
 58. *Jauniaux E., Poston L., Burton G.J.* Placental-related diseases of pregnancy: Involvement of oxidative stress and implications in human evolution // *Hum. Reprod. Update.* 2006. V. 12. № 6. P. 747–755. <https://doi.org/10.1093/humupd/dml016>
 59. *Getahun D., Rhoads G.G., Demissie K. et al.* In utero exposure to ischemic-hypoxic conditions and attention-deficit/hyperactivity disorder // *Pediatrics.* 2013. 131(1):e53–e61. <https://doi.org/10.1542/peds.2012-1298>
 60. *Brown J.S., Adera T., Masho S.W.* Previous abortion and the risk of low birth weight and preterm births // *J. Epidemiol. Community Health.* 2008. V. 62. № 1. P. 16–22. <https://doi.org/10.1136/jech.2006.050369>
 61. *Li J., Olsen J., Vestergaard M., Obel C.* Low Apgar scores and risk of childhood attention deficit hyperactivity disorder // *J. Pediatr.* 2011. V. 158. № 5. P. 775–779. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2010.10.041>
 62. *Sucksdorff M., Lehtonen L., Chudal R. et al.* Preterm birth and poor fetal growth as risk factors of attention-deficit/hyperactivity disorder // *Pediatrics.* 2015. 136(3):e599–e608. <https://doi.org/10.1542/peds.2015-1043>
 63. *Schupf N., Ottman R.* Risk of epilepsy in offspring of affected women: Association with maternal spontaneous abortion // *Neurology.* 2001. V. 57. № 9. P. 1642–1649. <https://doi.org/10.1212/wnl.57.9.1642>
 64. *Ahrens K.A., Rossen L.M., Branum A.M.* Pregnancy loss history at first parity and selected adverse pregnancy outcomes // *Ann. Epidemiol.* 2016. V. 26. № 7. P. 474–481. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2016.04.011>
 65. *Paz Levy D., Wainstock T., Sheiner E. et al.* Maternal recurrent pregnancy loss is associated with an increased risk for long-term neurological morbidity in offspring // *Dev. Med. Child Neurol.* 2019. V. 61. № 1. P. 91–97. <https://doi.org/10.1111/dmcn.13976>
 66. *Wang H., Li F., Miao M. et al.* Maternal spontaneous abortion and the risk of attention-deficit/hyperactivity disorder in offspring: A population-based cohort study // *Hum. Reprod.* 2020. V. 35. № 5. P. 1211–1221. <https://doi.org/10.1093/humrep/deaa035>
 67. *Fergusson D.M., Horwood L.J., Boden J.M.* Abortion and mental health disorders: Evidence from a 30-year longitudinal study // *Br. J. Psychiatry.* 2008. V. 193. № 6. P. 444–451. <https://doi.org/10.1192/bjp.bp.108.056499>
 68. *Tsigos C., Chrousos G.P.* Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress // *J. Psychosom. Res.* 2002. V. 53. № 4. P. 865–871. [https://doi.org/10.1016/s0022-3999\(02\)00429-4](https://doi.org/10.1016/s0022-3999(02)00429-4)
 69. *Seckl J.R., Holmes M.C.* Mechanisms of disease: glucocorticoids, their placental metabolism and fetal 'programming' of adult pathophysiology // *Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab.* 2007. V. 3. № 6. P. 479–488. <https://doi.org/10.1038/ncpendmet0515>
 70. *Lewis A.J., Galbally M., Gannon T., Symeonides C.* Early life programming as a target for prevention of child and adolescent mental disorders // *BMC Med.* 2014. 12:33. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-12-33>
 71. *Renaud S.J., Cotechini T., Quirt J.S. et al.* Spontaneous pregnancy loss mediated by abnormal maternal inflammation in rats is linked to deficient uteroplacental perfusion // *J. Immunol.* 2011. V. 186. № 3. P. 1799–1808. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1002679>
 72. *Ji H., Yu Y., Miao M. et al.* Risk of intellectual disability and maternal history of spontaneous abortion: A nationwide cohort study // *Dev. Med. Child Neurol.* 2021. V. 63. № 7. P. 831–838. <https://doi.org/10.1111/dmcn.14839>
 73. *Gaskins A.J., Rich-Edwards J.W., Hauser R. et al.* Maternal prepregnancy folate intake and risk of spontaneous abortion and stillbirth // *Obstet. Gynecol.* 2014. 124(1):23–31. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000000343>
 74. *DeVilbiss E.A., Magnusson C., Gardner R.M. et al.* Antenatal nutritional supplementation and autism spectrum disorders in the Stockholm youth cohort: Population based cohort study // *BMJ.* 2017. 359:j4273. <https://doi.org/10.1136/bmj.j4273>
 75. *Carbone M.A., Jordan K.W., Lyman R.F. et al.* Phenotypic variation and natural selection at Catsup, a pleiotropic quantitative trait gene in *Drosophila* // *Curr. Biol.* 2006. V. 16. № 9. P. 912–919. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.03.051>
 76. *Kirov G., Rees E., Walters J.T. et al.* The penetrance of copy number variations for schizophrenia and devel-

- opmental delay // *Biol. Psychiatry*. 2014. V. 75. № 5. P. 378–385.
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.07.022>
77. Huguet G., Schramm C., Douard E. et al. Measuring and estimating the effect sizes of copy number variants on general intelligence in community-based samples // *JAMA Psychiatry*. 2018. V. 75. № 5. P. 447–457.
<https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2018.0039>
 78. Spielmann M., Lupiáñez D.G., Mundlos S. Structural variation in the 3D genome // *Nat. Rev. Genet.* 2018. V. 19. № 7. P. 453–467.
<https://doi.org/10.1038/s41576-018-0007-0>
 79. Stankiewicz P., Lupski J.R. Structural variation in the human genome and its role in disease // *Annu. Rev. Med.* 2010. V. 61. P. 437–455.
<https://doi.org/10.1146/annurev-med-100708-204735>
 80. Iafrate A.J., Feuk L., Rivera M.N. et al. Detection of large-scale variation in the human genome // *Nat. Genet.* 2004. V. 36. № 9. P. 949–951.
<https://doi.org/10.1038/ng1416>
 81. Hastings P.J., Lupski J.R., Rosenberg S.M., Ira G. Mechanisms of change in gene copy number // *Nat. Rev. Genet.* 2009. V. 10. № 8. P. 551–564.
<https://doi.org/10.1038/nrg2593>
 82. Wilfert A.B., Sulovari A., Turner T.N. et al. Recurrent *de novo* mutations in neurodevelopmental disorders: Properties and clinical implications // *Genome Med.* 2017. 9:101.
<https://doi.org/10.1186/s13073-017-0498-x>
 83. Munnich A., Demily C., Frugère L. et al. Impact of on-site clinical genetics consultations on diagnostic rate in children and young adults with autism spectrum disorder // *Mol. Autism*. 2019. 10:33.
<https://doi.org/10.1186/s13229-019-0284-2>
 84. Rees E., Walters J.T., Georgieva L. et al. Analysis of copy number variations at 15 schizophrenia-associated loci // *Br. J. Psychiatry*. 2014. V. 204. № 2. P. 108–114.
<https://doi.org/10.1192/bjp.bp.113.131052>
 85. Crawford K., Bracher-Smith M., Owen D. et al. Medical consequences of pathogenic CNVs in adults: Analysis of the UK Biobank // *J. Med. Genet.* 2019. V. 56. № 3. P. 131–138.
<https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2018-105477>
 86. Macé A., Tuke M.A., Deelen P. et al. CNV-association meta-analysis in 191,161 European adults reveals new loci associated with anthropometric traits // *Nat. Commun.* 2017. 8(1):744.
<https://doi.org/10.1038/s41467-017-00556-x>
 87. Owen D., Bracher-Smith M., Kendall K.M. et al. Effects of pathogenic CNVs on physical traits in participants of the UK Biobank // *BMC Genomics*. 2018. 19(1):867.
<https://doi.org/10.1186/s12864-018-5292-7>
 88. Stefansson H., Meyer-Lindenberg A., Steinberg S. et al. CNVs conferring risk of autism or schizophrenia affect cognition in controls // *Nature*. 2014. V. 505. № 7483. P. 361–366.
<https://doi.org/10.1038/nature12818>
 89. McDonald-McGinn D.M., Sullivan K.E., Marino B. et al. 22q11.2 deletion syndrome // *Nat. Rev. Dis. Primers*. 2015. 1:15071.
<https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.71>
 90. Boot E., Butcher N.J., Udow S. et al. Typical features of Parkinson disease and diagnostic challenges with microdeletion 22q11.2 // *Neurology*. 2018. V. 90. № 23. e2059–e2067.
<https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000005660>
 91. Gudmundsson O.O., Walters G.B., Ingason A. et al. Attention-deficit hyperactivity disorder shares copy number variant risk with schizophrenia and autism spectrum disorder // *Transl. Psychiatry*. 2019. 9(1):258.
<https://doi.org/10.1038/s41398-019-0599-y>
 92. Maisenbacher M.K., Merrion K., Pettersen B. et al. Incidence of the 22q11.2 deletion in a large cohort of miscarriage samples // *Mol. Cytogenet.* 2017. 10:6.
<https://doi.org/10.1186/s13039-017-0308-6>
 93. Srebniak M.I., Knapen M.F., Polak M. et al. The influence of SNP-based chromosomal microarray and NIPT on the diagnostic yield in 10,000 fetuses with and without fetal ultrasound anomalies // *Hum. Mutat.* 2017. V. 38. № 7. P. 880–888.
<https://doi.org/10.1002/humu.23232>
 94. Levy B., Wapner R. Prenatal diagnosis by chromosomal microarray analysis // *Fertil. Steril.* 2018. V. 109. № 2. P. 201–212.
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.01.005>
 95. Chau M.H.K., Cao Y., Kwok Y.K.Y. et al. Characteristics and mode of inheritance of pathogenic copy number variants in prenatal diagnosis // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2019. V. 221. № 5. P493.E1–493.E11.
<https://doi.org/10.1016/j.ajog.2019.06.007>
 96. Dixon M.J., Marazita M.L., Beaty T.H., Murray J.C. Cleft lip and palate: Understanding genetic and environmental influences // *Nat. Rev. Genet.* 2011. V. 12. № 3. P. 167–178.
<https://doi.org/10.1038/nrg2933>
 97. Setó-Salvia N., Stanier P. Genetics of cleft lip and/or cleft palate: Association with other common anomalies // *Eur. J. Med. Genet.* 2014. V. 57. № 8. P. 381–393.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2014.04.003>
 98. Wang H., Chau M.H.K., Cao Y. et al. Chromosome copy number variants in fetuses with syndromic malformations // *Birth Defects Res.* 2017. V. 109. № 10. P. 725–733.
<https://doi.org/10.1002/bdr2.1054>
 99. Liao C., Fu F., Yi C.X. et al. Prenatal diagnosis of an atypical 1q21.1 microdeletion and duplication associated with foetal urogenital abnormalities // *Gene*. 2012. V. 1. № 507. P. 92–94.
<https://doi.org/10.1016/j.gene.2012.07.008>
 100. Zhang H., Yue F., Zhang X. et al. Prenatal detection of distal 1q21.1q21.2 microduplication with abnormal ultrasound findings: Two cases report and literature review // *Medicine*. 2021. 100(1):e24227.
<https://doi.org/10.1097/MD.0000000000002427>
 101. Yue F., Deng S., Xi Q. et al. Prenatal detection of a 3q29 microdeletion in a fetus with ventricular septum defect: A case report and literature review // *Medicine*. 2021. 100(1):24224.
<https://doi.org/10.1097/MD.0000000000002424>
 102. Lu F., Xue P., Zhang B. et al. Estimating the frequency of causal genetic variants in fetuses with congenital heart defects: A Chinese cohort study // *Orphanet J. Rare Dis.* 2022. 17:2.
<https://doi.org/10.1186/s13023-021-02167-8>

103. *Coyan A.G., Dyer L.M.* 3q29 microduplication syndrome: Clinical and molecular description of eleven new cases // *Eur. J. Med. Genet.* 2020. V. 63. № 12. 104083.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2020.104083>
104. *Chen C.P., Lin C.J., Chern S.R. et al.* Prenatal diagnosis and molecular cytogenetic characterization of a 1.07-Mb microdeletion at 5q35.2–q35.3 associated with *NSD1* haploinsufficiency and Sotos syndrome // *Taiwan. J. Obstet. Gynecol.* 2014. V. 53. № 4. P. 583–587.
<https://doi.org/10.1016/j.tjog.2014.10.002>
105. *Marcato L., Turolla L., Pompili E. et al.* Prenatal phenotype of Williams–Beuren syndrome and of the reciprocal duplication syndrome // *Clin. Case Rep.* 2014. V. 2. № 2. P. 25.
<https://doi.org/10.1002/ccr3.48>
106. *Kobalka A.J., Mrak R.E., Gunning W.T.* A case report of in utero Williams syndrome arterial malformation // *Fetal Pediatr. Pathol.* 2017. V. 36. № 6. P. 452–456.
<https://doi.org/10.1080/15513815.2017.1379040>
107. *Srinivasan S., Howley L.W., Cuneo B.F., Chatfield K.C.* In-utero idiopathic ductal constriction: A prenatal manifestation of Alagille and Williams syndrome arteriopathy // *J. Perinatol.* 2018. V. 38. № 11. P. 1453–1456.
<https://doi.org/10.1038/s41372-018-0221-9>
108. *Yuan M., Deng L., Yang Y., Sun L.* Intrauterine phenotype features of fetuses with Williams–Beuren syndrome and literature review // *Ann. Hum. Genet.* 2020. V. 84. № 2. P. 169–176.
<https://doi.org/10.1111/ahg.12360>
109. *Dang Y., Wan S., Zheng Y. et al.* The prenatal diagnosis of seven fetuses with 7q11.23 microdeletion or microduplication // *Fetal Pediatr. Pathol.* 2020. V. 39. № 4. P. 269–276.
<https://doi.org/10.1080/15513815.2019.1651802>
110. *Faivre L., Morichon-Delvallez N., Viot G. et al.* Prenatal diagnosis of an 8p23.1 deletion in a fetus with a diaphragmatic hernia and review of the literature // *Prenat. Diagn.* 1998. V. 18. № 10. P. 1055–1060.
[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0223\(199810\)18:1-0<1055::aid-pd405>3.0.co;2-i](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0223(199810)18:1-0<1055::aid-pd405>3.0.co;2-i)
111. *Hoellen F., Weichert J.* Sonographic diagnosis of multiple cardiovascular malformations in a fetus with an interstitial 8p23.1 deletion // *J. Ultrasound Med.* 2012. V. 31. № 10. P. 1689–1692.
<https://doi.org/10.7863/jum.2012.31.10.1689>
112. *Keitges E.A., Pasion R., Burnside R.D. et al.* Prenatal diagnosis of two fetuses with deletions of 8p23.1, critical region for congenital diaphragmatic hernia and heart defects // *Am. J. Med. Genet. A.* 2013. V. 161. № 7. P. 1755–1758.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.35965>
113. *Barber J.C., Bunyan D., Curtis M. et al.* 8p23.1 duplication syndrome differentiated from copy number variation of the defensin cluster at prenatal diagnosis in four new families // *Mol. Cytogenet.* 2010. 3:3.
<https://doi.org/10.1186/1755-8166-3-3>
114. *Barber J.C., Rosenfeld J.A., Foulds N. et al.* 8p23.1 duplication syndrome; common, confirmed, and novel features in six further patients // *Am. J. Med. Genet. A.* 2013. V. 161. № 3. P. 487–500.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.35767>
115. *Zhang Y., Li Y., Wang Y. et al.* 8p23.1 duplication detected by array-CGH with complete atrioventricular septal defect and unilateral hand preaxial hexadactyly // *Am. J. Med. Genet. A.* 2013. V. 161. № 3. P. 561–565.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.35596>
116. *Tang H.S., Wang D.G., Xie X.M., Li D.Z.* Apparent germline mosaicism for a 15q11–q13 deletion causing recurrent Angelman syndrome in a Chinese family // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2019. V. 236. P. 255–257.
<https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2019.02.029>
117. *Bigi N., Faure J.M., Coubes C. et al.* Prader–Willi syndrome: Is there a recognizable fetal phenotype? // *Prenat. Diagn.* 2008. V. 28. № 9. P. 796–799.
<https://doi.org/10.1002/pd.1973>
118. *Traisrisitl P., Sirikunlai P., Sirilert S. et al.* Cardiac rhabdomyoma as a possible new prenatal sonographic feature of Prader–Willi syndrome // *J. Obstet. Gynecol. Res.* 2022. V. 48. № 1. P. 239–243.
119. *Lin C.Z., Qi B.R., Hu J.S. et al.* Chromosome 15q13 microduplication in a fetus with cardiac rhabdomyoma: A case report // *Mol. Cytogenet.* 2019. 12:24.
<https://doi.org/10.1186/s13039-019-0437-1>
120. *Fan Y.S., Farrell S.A.* Prenatal diagnosis of interstitial deletion of 17(p11.2p11.2) (Smith–Magenis syndrome) // *Am. J. Med. Genet.* 1994. V. 49. № 2. P. 253–254.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.1320490220>
121. *Thomas D.G., Jacques S.M., Flore L.A. et al.* Prenatal diagnosis of Smith–Magenis syndrome (del 17p11.2) // *Fetal Diagn. Ther.* 2000. V. 15. № 6. P. 335–337.
<https://doi.org/10.1159/000021032>
122. *Zhou Y., Xie Y., Zhu Y. et al.* Smith–Magenis syndrome in monozygotic twin fetuses presenting with discordant phenotypes and uteroplacental insufficiency // *Mol. Med. Rep.* 2016. V. 13. № 1. P. 347–352.
<https://doi.org/10.3892/mmr.2015.4538>
123. *Lei T.Y., Li R., Fu F. et al.* Prenatal diagnosis of Smith–Magenis syndrome in two fetuses with increased nuchal translucency, mild lateral ventriculomegaly, and congenital heart defects // *Taiwan. J. Obstet. Gynecol.* 2016. V. 55. № 6. P. 886–890.
<https://doi.org/10.1016/j.tjog.2015.07.007>
124. *Zhang P., Sun Y., Tian H., et al.* Prenatal diagnosis and neonatal phenotype of a *de novo* microdeletion of 17p11.2p12 associated with Smith–Magenis syndrome and external genital defects // *J. Genet.* 2020. 99:50.
125. *Cai M., Fu X., Xu L. et al.* Prenatal diagnosis of 17p11.2 copy number abnormalities associated with Smith–Magenis and Potocki–Lupski syndromes in fetuses // *Front. Genet.* 2021. V. 2670.
<https://doi.org/10.3389/fgene.2021.779237>
126. *Popowski T., Molina-Gomes D., Loeuillet L. et al.* Prenatal diagnosis of the duplication 17p11.2 associated with Potocki–Lupski syndrome in a foetus presenting with mildly dysmorphic features // *Eur. J. Med. Genet.* 2012. V. 55. № 12. P. 723–726.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2012.08.008>
127. *Yusupov R., Roberts A.E., Lacro R.V. et al.* Potocki–Lupski syndrome: An inherited dup(17)(p11.2p11.2) with hypoplastic left heart // *Am. J. Med. Genet. Part A.* 2011. V. 155. № 2. P. 367–371.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.33845>

128. *Bravo C., Gamez F., Perez R. et al.* Prenatal diagnosis of Potocki–Lupski syndrome in a fetus with hypoplastic left heart and aberrant right subclavian artery // *J. Perinatol.* 2013. V. 33. № 5. P. 394–396. <https://doi.org/10.1038/jp.2012.77>
129. *Dhanaraj D., Chu A., Pappas J.G. et al.* Potocki–Lupski syndrome in conjunction with bilateral clubfoot // *J. Ped. Orthopaed. B.* 2015. V. 24. № 4. P. 373–376. <https://doi.org/10.1097/BPB.0000000000000131>
130. *McDonald-McGinn D.M., Sullivan K.E.* Chromosome 22q11.2 deletion syndrome (DiGeorge syndrome/velocardiofacial syndrome) // *Medicine.* 2011. V. 90. № 1. P. 1–18. <https://doi.org/10.1097/MD.0b013e3182060469>
131. *Кашеварова А.А., Лебедев И.Н., Назаренко Л.П.* Архитектура генома и хромосомные болезни. Синдромы реципрокных микроделетий и микродупликаций. Томск: Печатная мануфактура, 2014. 54 с.

Pleiotropy of Copy Number Variation in Human Genome

A. A. Kashevarova^{a, *}, G. V. Drozdov^a, D. A. Fedotov^a, I. N. Lebedev^a

^a*Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Tomsk, 634050 Russia*

**e-mail: anna.kashevarova@medgenetics.ru*

A brief history of the development of ideas about pleiotropy, its types, the overall prevalence of pleiotropic loci in the human genome, as well as pleiotropic variants and genes within the same group of pathologies (disorders of psychomotor development) and between diseases of different organ systems are discussed. Data on the association of the birth of a child with intellectual disabilities in a woman with a history of miscarriage are presented. The involvement of the same DNA copy number variations (CNV) in disorders of prenatal and postnatal development has been shown. The hypothesis is proposed that these CNVs are pleiotropic and manifested by one or another pathology, depending on additional modifying factors.

Keywords: pleiotropy, ontogenetic pleiotropy, DNA copy number variation (CNV), impaired psychomotor development, miscarriage.

Х-СЦЕПЛЕННЫЕ CNV В ПАТОГЕНЕТИКЕ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНЫХ РАССТРОЙСТВ¹

© 2022 г. Е. Н. Толмачева¹, *, Е. А. Фонова¹, И. Н. Лебедев¹

¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, 634050 Россия

*e-mail: kate.tolmacheva@medgenetics.ru

Поступила в редакцию 04.04.2022 г.

После доработки 25.05.2022 г.

Принята к публикации 31.05.2022 г.

В обзоре рассматриваются моногенные и хромосомные мутации, ассоциированные с X-сцепленной умственной отсталостью. Описаны особенности развития клинического фенотипа в случаях различных мутаций. Основное внимание уделяется X-сцепленным CNV – микроделециям и микродупликациям. Представлены наиболее часто встречающиеся у пациентов с умственной отсталостью хромосомные микроперестройки. Обсуждается модифицирующее влияние инактивации X-хромосомы на фенотип носительниц X-сцепленных мутаций. Рассматриваются проблемы интерпретации клинической значимости X-сцепленных CNV.

Ключевые слова: X-сцепленная умственная отсталость, микроделеции и микродупликации регионов X-хромосомы, вариации числа копий ДНК, инактивация X-хромосомы.

DOI: 10.31857/S0016675822100095

Сцепленная с X-хромосомой умственная отсталость (УО) относится к группе наследственных заболеваний, характеризующихся различной степенью умственной отсталости, вызванной мутациями в различных генах, локализованных на X-хромосоме. Диагноз УО устанавливается на основе трех следующих критериев: появление симптомов умственной отсталости до 18 лет; интеллектуальные функции значительно ниже среднего, с коэффициентом интеллекта (IQ) равным или ниже 70; плохие адаптивные навыки в следующих областях: общение, самообслуживание, социальные/межличностные контакты, самоуправление, успеваемость в школе, работа, отдых и здоровье. Познавательные способности обычно оцениваются с помощью определения IQ личности. УО может быть подразделена на четыре степени тяжести: легкая (уровень IQ от 50–55 до 70), умеренная (уровень IQ от 35–40 до 50–55), тяжелая (IQ уровень от 20–25 до 35–40) и глубокая (уровень IQ ниже 20–25).

Распространенность УО в западных странах оценивается примерно 2–3% [1]. В большинстве клинических случаев причины умственной отсталости остаются неизвестными, особенно в группе лиц с IQ более 50. В этой группе основную роль

играет взаимодействие между генетическими факторами и факторами окружающей среды. В группе больных с “тяжелой” умственной отсталостью (IQ ниже 50) чаще присутствует один узнаваемый и идентифицируемый фактор. Выяснение причин умственной отсталости важно для прогноза, лечения и генетического консультирования. В 25–35% случаев умственная отсталость может быть следствием генетических причин. Следовательно, умственную отсталость следует рассматривать как симптом, а не как болезнь, глубинные причины которого крайне разнородны, и в большинстве случаев причина умственной отсталости неизвестна [1].

Еще в 1938 г. Пенроуз сообщил о наблюдении, что УО значительно чаще встречается у мужчин, чем у женщин [2]. Последующие исследования на многочисленных больших родословных подтвердили это наблюдение и поддержали вывод о том, что средняя частота интеллектуальной недостаточности у мужчин примерно на 30% выше, чем у женщин [3]. Эти наблюдения заложили обоснование концепции о том, что дефекты генов, локализованных на X-хромосоме, играют важную роль в этиологии УО [3]. Клинические и генетические наблюдения показали, что X-сцепленная умственная отсталость (X-linked intellectual disability, XLID) представляет собой очень разнородный набор состояний, ответственных за 10–15% всех на-

¹ Дополнительная информация для этой статьи доступна по doi 10.31857/S0016675822100095 для авторизованных пользователей.

следственных случаев УО у мужчин, и встречается с частотой 1 на 600 индивидов мужского пола [4].

Полная последовательность X-хромосомы была расшифрована в 2005 г., и оказалось, что необычно большое количество генов несут информацию о белках, важных для функционирования мозга [5]. Из 867 известных генов, кодирующих белок, которые локализованы на X-хромосоме, продукты более 500 генов экспрессируются в мозге [6]. Считается, что большинство мутировавших генов, ответственных за развитие УО, влияют на развитие, миграцию клеток, формирование и поддержание нейронных сетей и межклеточной коммуникации в мозге. Гены, расположенные на X-хромосоме, влияют не только на общий интеллект, но также имеют относительно специфический эффект на социальное познание и эмоциональную регуляцию [5].

Мутации, способствующие развитию XLID, могут быть генными, либо представляют собой микроструктурные хромосомные перестройки, такие как микроделеции и микродупликации [7]. В этом обзоре обсуждаются все виды мутаций на X-хромосоме и факторы, влияющие на их манифестацию, но большее внимание уделяется хромосомным микроперестройкам, так как данные об их клинических эффектах остаются в недостаточной степени систематизированными.

XLID И МОНОГЕННЫЕ МУТАЦИИ

По данным Генетического Центра Гринвуда на декабрь 2021 г. идентифицировано 162 гена, связанных с X-сцепленными формами интеллектуальной недостаточности [8]. Одним из первых описанных генов, вовлеченных в XLID, является *FMRI* (Xq27.3, OMIM 309550), экспансия тринуклеотидного CAG-повтора в котором ответственна за синдром ломкой X-хромосомы (OMIM #300624). Синдром ломкой X-хромосомы составляет 1–2% всех случаев умственной отсталости в целом у мужчин, и эта мутация является наиболее частой причиной XLID [9, 10]. Помимо гена *FMRI* среди пациентов с X-сцепленной УО наиболее часто встречаются мутации в генах *ARX* (OMIM #300382) – 5–6% от всех случаев XLID, *MECP2* (OMIM 300005), *OPHN1* (OMIM 300127), *PQBP1* (OMIM 300463), *KDM5C* (OMIM 314690) (от 1 до 4% для каждого от всех случаев XLID) [11].

XLID подразделяется на синдромальные и несиндромальные формы. Эта классификация была предложена впервые Kerr et al. (1991) [6]. Синдромальные XLID – это состояния, связанные с поражением других органов и наличием пороков развития или характерных клинических признаков. Некоторые синдромальные формы связаны с грубыми пороками развития головного мозга или нарушениями миграции нейронов.

У больных с синдромальной формой УО сопровождается изменениями роста, характерными черепно-лицевыми аномалиями, нервно-мышечными нарушениями, поведенческими аномалиями или метаболическими нарушениями. Эти сопутствующие аномалии позволяют разделить синдромальные XLID на четыре класса: синдромы пороков развития, нервно-мышечные расстройства, метаболические и доминантные состояния [12].

Синдромы пороков развития относительно редки и характеризуются УО и множественными врожденными аномалиями. Wilson et al. (1992) описали “новый” тип неспецифической X-сцепленной умственной отсталости в трех поколениях семьи. Трое мужчин имели тяжелую форму УО (IQ 20–30), аутизм, задержку роста, частые инфекции, судороги и другие незначительные аномалии: брахицефалия, завиток волос на лобной части, квадратное лицо, большой рот, толстые губы и прогнатия [13]. Этот синдром был определен как X-сцепленная умственная отсталость № 12 (OMIM 309545).

Самыми распространенными являются нервно-мышечные синдромы. У пациентов обычно присутствуют спастичность, атаксия, атетоз, тремор, гипотония или, напротив, гипертонус, ригидность и другие нервно-мышечные симптомы. Кроме того, часто встречаются дефицит специфических органов чувств, нарушение зрения или слуха. Одним из примеров является синдромальное нарушение умственного развития, сцепленное с X-хромосомой, синдром Кабезаса (OMIM 300354), который помимо УО характеризуется низким ростом, гипогонадизмом и аномальной походкой, а также другими более вариабельными признаками, такими как задержка речи, выпуклая нижняя губа и тремор.

Метаболические синдромы возникают из-за дефектов в специфических биохимических путях. Одно из метаболических X-сцепленных заболеваний – мукополисахаридоз типа II (MPS2), также известный как синдром Хантера (OMIM 309900), вызывается мутацией в гене, кодирующем идуронат-2-сульфатазу, локализованном в Xq28. MPS2 является мультисистемным заболеванием. Клинические проявления включают тяжелую обструкцию дыхательных путей, деформации скелета, кардиомиопатию и у большинства пациентов ухудшение неврологического статуса. Смерть обычно наступает на втором десятилетии жизни, хотя некоторые пациенты с менее тяжелым заболеванием доживают до пятого или шестого десятилетия [14, 15].

Доминантные синдромы имеют X-сцепленное доминантное наследование с почти полным отсутствием пораженных мужчин из-за внутриутробной летальности, жизнеспособны только пораженные женщины [11]. Самым известным и частым доминантным синдромом является син-

дром Ретта (RTT, OMIM 312750) – тяжелое нарушение развития нервной системы, одна из наиболее частых причин умственной отсталости у женщин. Причиной синдрома являются мутации в гене *MECP2*. Хотя сначала считалось, что мутации *MECP2*, вызывающие RTT, были летальными для плодов мужского пола, в более поздних сообщениях было выявлено, что мальчики с RTT все-таки выживают, но характеризуются тяжелой неонатальной энцефалопатией. Затем несколько дополнительных сообщений подтвердили тяжелый фенотип у мужчин с RTT-ассоциированными мутациями гена *MECP2* [10, 16, 17].

Несиндромальные формы XLID определяются как непрогрессирующие состояния, влияющие на когнитивную функцию при отсутствии других отличительных особенностей [18]. При несиндромальной УО часто встречается коморбидность с аутизмом, эпилепсией и нервно-мышечными нарушениями (например, атаксия, спастическая параплегия, сенсорная/моторная невропатия и мышечная дистрофия) [19]. Подсчитано, что две трети XLID являются несиндромальными [11]. Однако один и тот же ген или даже одна и та же мутация в гене может привести как к синдромальной, так и к несиндромальной форме заболевания [6]. Наличие “мягких” мутаций и/или неполная пенетрантность специфических клинических признаков у некоторых лиц, несущих мутации в генах, связанных с синдромальной умственной отсталостью, может стереть различие между синдромальной и несиндромальной умственной отсталостью [20]. Например, рекуррентная мутация, представляющая собой дупликацию вставки в 24 пн в экзоне 2 гена *ATRX* и приводящая к расширению полиаланинового тракта, связана с синдромальными, и с несиндромальными формами, характеризующимися широким спектром фенотипических нарушений, начиная от лиссэнцефалии (*LISX2*; OMIM 300215) до синдрома Прауда (OMIM 300004), синдрома Партингтона (OMIM 309510) и несиндромальной формы (XLID29, OMIM 300419) умственной отсталости [21, 22]. Мужчины с мутациями *ARX* часто страдают более тяжело, женщины-носители мутаций также могут быть поражены [21, 22].

Продукты генов, ответственных за XLID, делятся на четыре общие группы по биологическим функциям, которые считаются критически важными для морфологии и целостности нейронов: везикулярный цикл в пресинаптическом нервном окончании; динамика цитоскелета; клеточная адгезия и трансинаптическая передача сигналов; регуляция трансляции [23]. Примерно 18% известных в настоящее время генов, ассоциированных с XLID, кодируют мембранные белки. Среди них классические *CAMs* (L1 Cell Adhesion Molecule – *L1CAM*; Neuroligin-3 – *NL3*; Neuroligin-4 – *NL4*; Protocadherin19 – *PCDH19*) [24], а также дополни-

тельный белок рецептора интерлейкина-1 (ген *IL1RAPL1*), который опосредует синаптическую адгезию [25], и Tetraspanin-7 (*TSPAN7*), который взаимодействует с интегриновым классом *CAMs* [26]. Мутации в генах *NL3* (OMIM 300366) и *NL4* (OMIM 300427) были идентифицированы в двух родственных парах с тяжелой умственной отсталостью и аутизмом. Молекулы адгезии представляют собой интегральные мембранные белки, которые внеклеточно связывают белки клеточной поверхности или компоненты внеклеточного матрикса и обеспечивают мост через синаптическую щель. Помимо обеспечения структурной связи между пре- и пост-синапсом молекулы адгезии также функционально координируют две стороны синапса посредством двунаправленной передачи сигнала. Следовательно, роль молекул адгезии варьирует от синаптогенеза до созревания и пластичности синапсов [27]. Молекулы адгезии имеют общую структуру с внеклеточной частью, которая опосредует их адгезионные свойства, трансмембранным доменом и цитоплазматическим доменом, которые связывают цитоскелетные и сигнальные молекулы.

Х-СЦЕПЛЕННАЯ УМСТВЕННАЯ ОТСТАЛОСТЬ И CNV

Разработки в технологии геномных микрочипов произвели революцию в изучении изменчивости числа копий генов человека. Использование сравнительной геномной гибридизации в исследованиях XLID привело к идентификации новых генов XLID, изменений количества копий в известных генах XLID и описанию вариации числа копий (CNV) в генах, которые ранее не считались ответственными за развитие XLID. Было установлено, что субмикроскопические делеции и дупликации на X-хромосоме могут объяснить около 5% идиопатических случаев XLID [28]. В результате многочисленных исследований был выявлен ряд особенностей, связанных с локализацией CNV на X-хромосоме [28–30]:

- 1) на X-хромосоме наблюдается больше дупликаций, чем делеций;
- 2) размер дупликаций на X-хромосоме больше, чем размер делеций, из-за потенциальной нежизнеспособности имеющего большие делеции гемизиготного индивида;
- 3) большинство X-сцепленных CNV (при различных патологиях от 30 до 80%) унаследованы от фенотипически здоровой матери.

Эти характеристики связаны с гемизиготным состоянием X-сцепленных генов у мужчин, что делает анализ CNV на X-хромосоме особенно значимым [28].

Субмикроскопические перестройки X-хромосомы у мужчин можно разделить на внутригенные и

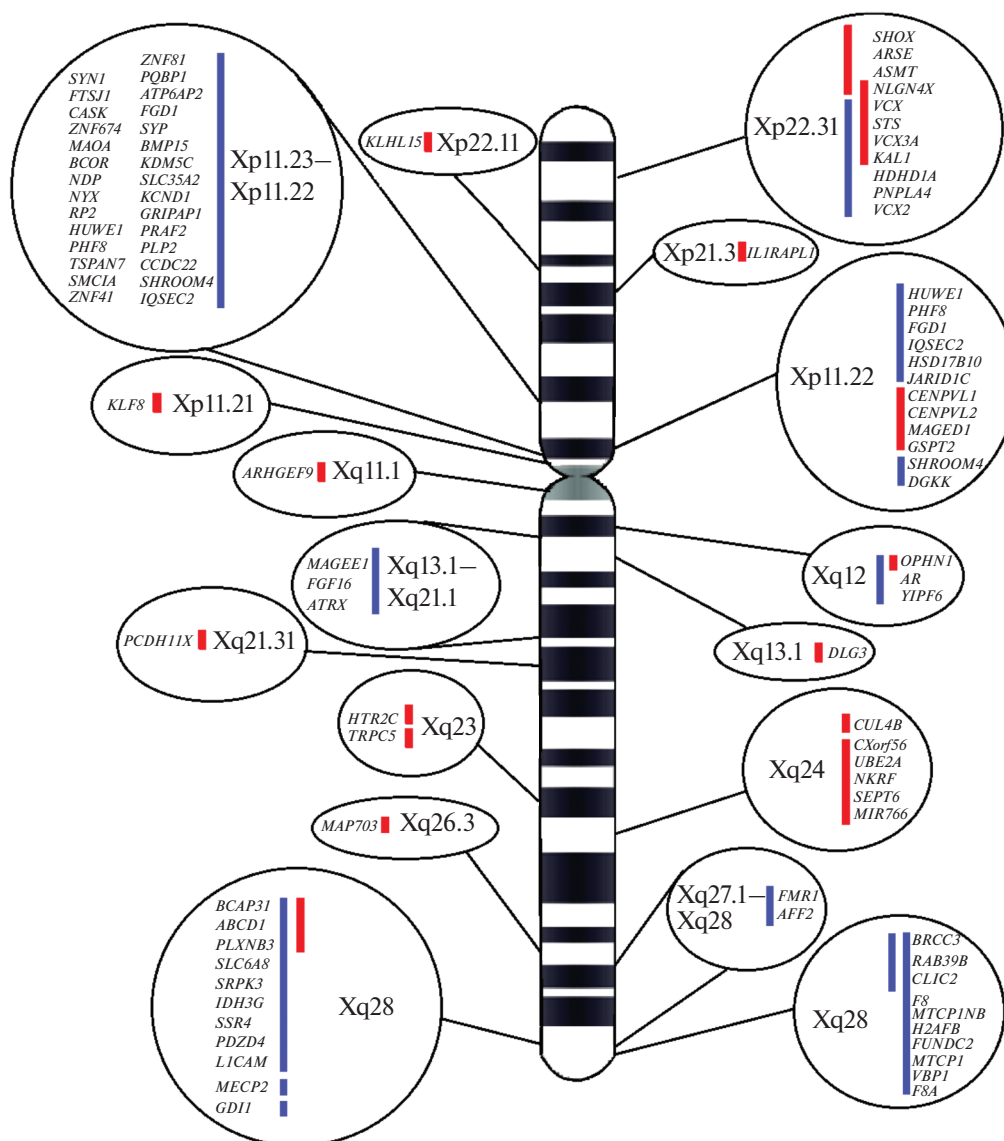


Рис. 1. Локализация X-сцепленных CNV на X-хромосоме. Синий цвет – дубликации, красный цвет – делеции. Указана относительная протяженность хромосомных микроперестроек и входящие в их состав гены.

те, которые затрагивают весь ген или несколько генов. Для делеций это, скорее всего, не имеет значения, поскольку делеции нескольких экзонов гена на X-хромосоме у мужчин приведут к такому же отсутствию функционального продукта, как и потеря всего гена. Однако для дубликаций внутригенные перестройки, включая экзоны, могут привести к образованию неправильных транскриптов и удлиненных белков. Когда точка разрыва в дубликации находится внутри гена, окончательный результат зависит от того, является ли дубликация тандемной или инвертированной, либо дубликация представляет собой инсерцию в другое место в геноме. Далее будут обсуждены наиболее распространенные либо клинически значимые микроперестройки, связанные с XLID,

а большее число X-сцепленных CNV приведено в таблице (Приложение) и на рис. 1.

Делеция региона Xp21 с вовлечением гена IL1RAPL1

Миссенс-мутации и делеции в гене *IL1RAPL1* (OMIM 300206) являются причиной формирования X-сцепленной формы УО – XLID21 (OMIM 300143). Эта форма характеризуется спектром когнитивных неврологических нарушений, варьирующих от умеренных нарушений интеллектуального развития до симптомов расстройства аутистического спектра (РАС). Мужчины обычно поражены тяжело, а у некоторых женщин-носительниц могут проявляться более легкие нарушения [31]. У мужчин с делецией размером 635 тпн, охваты-

вающей экзона 2–5 гена *IL1RAPL1*, наблюдались низкий IQ, отклонения в поведении, включая импульсивность, оппозиционное расстройство и гиперактивность. Кроме того, у пациентов были зафиксированы различные дисморфии: гипотония, воронкообразная деформация грудины, выдающаяся челюсть, синофриз и гиперрастяжение суставов. Ни у одного больного не было выявлено аутизма [32].

Делеция региона Xp11.4

У девочки с тяжелой формой УО, задержкой роста с микроцефалией, судорогами, прогрессирующим сколиозом, колобомой правой сетчатки и расщелиной нёба была обнаружена делеция *de novo* в регионе Xp11.4. Делеция размером 3.2 млн пн затрагивала восемь генов. В область делеции вошли три гена из списка генов, связанных с XLID: *MAOA* (OMIM 309850), *NDP* (OMIM 310600) и часть гена *CASK* (OMIM 300172). Гаплонедостаточность этих генов может объяснить тяжесть клинического фенотипа. У пациентки наблюдалась экстремальное смещение инактивации X-хромосомы (100/0) [33].

Делеция региона Xq23 с вовлечением гена *CUL4B*

Мутации гена *CUL4B*, расположенного в Xq23, вызывают синдром Кабезаса (OMIM 300354), который характеризуется УО, низким ростом и задержкой речи, наряду с другими более переменными признаками. Делеция в гене *CUL4B* у 10-летнего мальчика сопровождалась тяжелой формой УО и выраженной задержкой речи. У пациента присутствовали поведенческие проблемы, такие как тревожность, аутизм, а также агрессивный и склонный к самоповреждениям характер. У него был низкий рост, небольшая макроцефалия, низко посаженные уши, закругленный кончик носа, косоглазие, выступающая нижняя губа, скученность зубов, маленькие стопы и широкие пальцы ног. Он также страдал судорогами, легкой нейросенсорной тугоухостью, нарушением походки, задержкой мелкой моторики и истощением мышц голени [34].

Делеция в регионе Xq24

В 90% случаев всех крупных делеций этого региона задействованы пять генов: *CXorf56*, *UBE2A*, *NKRF*, *SEPT6* и *MIR766*. Кандидатным геном для проявления клинических признаков заболевания, вероятнее всего, является ген *UBE2A*. Мутации в гене *UBE2A* и затрагивающие его делеции приводят к синдрому Насименто или дефицита *UBE2A* (OMIM 300860) [35]. Основные клинические симптомы данного синдрома: задержка психомоторного и речевого развития, гипотония, судороги,

врожденный порок сердца (дефект межжелудочковой перегородки) и аномалии половых органов (крипторхизм, уменьшенный пенис) [36–38]. При анализе гено-фенотипических корреляций всех пациентов с синдромом дефицита *UBE2A* можно разделить на две основные группы: I группа из тех, у кого есть внутригенные мутации (либо точечные мутации, либо небольшие делеции), и II группа – имеющие большие делеции, включающие другие гены в дополнение к гену *UBE2A*. Пациенты с более крупными делециями, включающие ген *UBE2A*, имеют более высокую распространенность пороков белого вещества головного мозга и пороки развития мочеполовой системы, по сравнению с пациентами с внутригенными делециями и миссенс-мутациями. Более того, пороки сердца также чаще встречались у пациентов из второй группы по сравнению с пациентами первой [37]. Еще один ген, входящий в область делеции, – *CXorf56* связан с задержкой интеллектуального развития (OMIM 301013). Ген экспрессируется в головном мозге. Инсерция в этом гене, приводящая к появлению преждевременного стоп-кодона и бессмысленной мРНК, приводит к развитию семейной формы УО [39].

Фенотипические последствия дупликации генов, связанных с X-сцепленной умственной отсталостью, разнообразны. В первом случае дупликация может быть связана с фенотипом, идентичным фенотипу, связанному с мутацией потери функции или делецией гена. Так обстоит дело с дупликацией гена *PLP1*, которая приводит к синдрому Пелизеуса–Мерцбахера. Во втором случае дупликация гена XLID может привести к уникальному фенотипу. Дупликация *MESP2*, по-видимому, является наиболее распространенной дупликацией этого типа. Аналогичным образом проявляются дупликации генов *STAG2*, *HUWE1* и *OCRL* [40]. Промежуточными между этими фенотипическими последствиями являются дупликации гена *ATRX*, которые связаны с переменными фенотипическими проявлениями синдрома умственной отсталости и альфа-талассемии (низкий рост, генитальные аномалии, умственная отсталость, гипотония), но лишены типичных черт лица, наблюдаемых при вариантах потери функций [40]. Кроме того, дупликации некоторых генов, связанных с XLID (*IKBKG*, *ARX*) и определенных областей X-хромосомы (Xp21.33, Xq21.33), по-видимому, не связаны с аномалиями развития нервной системы, хотя они могут быть связаны с другими соматическими отклонениями [41–43].

Дупликация Xp11.23p11.22

Дупликация, затрагивающая область Xp11.23p11.22, очень редко встречается у представителей обоих полов. Известны наследуемые формы и формы *de novo*. Сообщалось о нерезидивных дупликациях разме-

ром 0.3–55 млн пн в дополнение к рецидивирующей форме размером около 4.5 млн пн, поэтому гены, участвующие в дупликациях у отдельных пациентов, могут быть совершенно разными. При этом у пациентов с разными вариантами этой дупликации, независимо от генного состава, проявляются весьма схожие симптомы [44]. В исследовании шести семей Froyen et al. (2008) [33] выделили минимальную перекрывающуюся область. Функциональный анализ вовлеченных генов выявил причинно-следственную связь между повышенной дозой генов и умственной отсталостью только в случае гена *HUWE1* [45]. Мутации последовательности в *HUWE1* были связаны с синдромом Юберга–Марсиди, синдромом Брукса (OMIM 309590), синдромом XLID-макроцефалии Тернера, а также были описаны в семье, в которой мужчины имели умеренную степень УО, но не имели лицевых дисморфий [33, 45, 46]. Дупликация *HUWE1* связана с УО средней степени тяжести, ограниченной речью или дизартрией, лицевыми дисморфиями (гипертелоризм, косые глазные щели, синофриз, открытый рот) и, как правило, нормальными показателями пренатального и постнатального роста. В некоторых случаях пациенты не имели выраженных дисморфий и обладали нормальным ростом. Судороги выявлены у нескольких пациентов, у одного индивида была подслизистая расщелина нёба, а у двух мальчиков была гипоспадия первой степени [40]. Grems et al. (2015) [25] на основе их собственного анализа и ранее опубликованных случаев с дупликацией Xp11.2 подчеркнули важность двух субрегионов дупликации. Одна из них (область 1) содержит гены *SHROOM4* и *DGKK*, другая (область 2) гены *HUWE1*, *KDM5C* и *IQSEC2*. Наиболее распространенными основными симптомами у пациентов с дупликацией Xp11.23p11.22 являются задержка развития, умственная отсталость различной степени тяжести, судороги и различные поведенческие аномалии.

Дупликация региона Xq22.2 с участием гена PLP1

Дефект гена *PLP1* может вызывать широкий спектр клинических фенотипов, начиная от врожденной формы болезни Пелицеуса–Мерцбахера (PMD, OMIM 312080) и заканчивая формой X-сцепленной спастической параплегии 2-го типа (SPG2, OMIM 312920). Симптомы варьируют от тяжелой картины, проявляющейся при рождении, со спастичностью, стридором и нистагмом, до относительно легкого парапареза без когнитивных нарушений. PMD/SPG2 наследуется как сцепленный с X-хромосомой признак, ген *PLP1* локализован в Xq22.2. Точечные мутации гена *PLP1* ответственны за 20% случаев PMD/SPG2, вызывающих широкий спектр клинических фенотипов. Сообщалось, что редкие делеции целого

гена *PLP1* вызывают легкую форму PMD/SPG2 с умеренной спастической параплегией и легкой задержкой когнитивных функций [47]. Дупликация сегмента X-хромосомы, содержащего ген *PLP1*, является наиболее частым генным дефектом, на который приходится 60–70% случаев PMD. У пациентов с дупликацией гена *PLP1* обычно наблюдается классическая форма PMD с началом на первом году жизни, характеризующаяся нистагмом, УО и спастичностью. О наличии более двух копий гена *PLP1* сообщалось у небольшого числа пациентов с тяжелой формой PMD [47]. Среди пациентов с классической формой заболевания и дупликацией гена *PLP1* степень клинической тяжести может варьировать. Эта изменчивость не коррелирует с размером дупликации гена *PLP1* [47].

Дупликация в регионе Xq25

Сообщалось о ряде дупликаций в Xq25, области обедненной генами, у мужчин и женщин. Ген *STAG2*, который кодирует субъединицу комплекса cohesin, в этих случаях полностью дублируется, а соседние гены (*XIAP*, *THOC2*, *GRIA3*, *SH2D1A* и *TENM1*) вариабельно дублируются полностью или частично [48]. В фенотипе преобладает УО различной степени тяжести. Другие общие черты включают нормальный рост и окружность головы, уплощенность скул, толстую красную кайму губ, прогнатию, лицевую гипотонию и поведенческие проблемы. Судороги и аутизм встречаются у трети или реже. Напротив, пациенты с делециями или вариантами точечных мутаций *STAG2* имеют более серьезную задержку развития, нарушение роста, микроцефалию и пороки развития срединной линии, включая голопроэнцефалию или другие аномалии ЦНС, расщелину лица и глазные колобомы.

Дупликация региона Xq26.1 (ген OCRL)

Синдром Лоу (OMIM 309000), вызванный мутациями последовательности или делециями гена *OCRL*, характеризуется ранним началом катаракты, снижением мышечного тонуса и рефлексов, аминокислотурией и УО. Дупликация *OCRL* была описана в трех семьях, у всех в сочетании с дупликациями соседних генов [49, 50]. В этих семьях у пораженных лиц наблюдались аномалии развития нервной системы, УО, аутизм и судороги, но среди этих мальчиков не наблюдалось фенотипа синдрома Лоу.

Синдром дупликации региона Xq28 (OMIM 300815)

На X-хромосоме была обнаружена высокая частота патогенетически значимых микродупликаций, демонстрирующая, что повышенная экспрессия X-сцепленных генов также может нарушать нормальное когнитивное развитие [51].

Рекуррентные перестройки обычно опосредованы неаллельной гомологичной рекомбинацией между фланкирующими сегментными дупликациями или низкокопийными повторами (LCR; геномные дупликации >1 тпн с более 90% идентичности), что приводит к делециям, дупликациям, амплификациям или инверсиям промежуточных геномных сегментов. Несколько повторяющихся aberrаций из-за неаллельной гомологичной рекомбинации между двумя высокогомологичными повторяющимися единицами были описаны на X-хромосоме, например в Xp22.3, которые приводили к X-сцепленному ихтиозу (MIM 308100). Сегмент Xq28 представляет особый интерес, поскольку он содержит множество наборов LCR, расположенных в непосредственной близости друг от друга, что делает этот регион склонным к рекомбинации, которая может привести к заболеванию [51]. Дупликации Xq28 являются наиболее частыми хромосомными aberrациями, наблюдаемыми у пациентов с УО, особенно у мужчин. Эти дупликации происходят по переменным механизмам, включая интерстициальные дупликации, опосредованные сегментными дупликациями в этой области, и терминальные дупликации (функциональные дисомии), возникающие в результате транслокации с другими хромосомами. Наиболее часто дуплицированная область включает ген метил-СрG-связывающего белка 2 (*MECP2*) с минимальным размером дупликации 0.2 млн пн. У пациентов с дупликацией *MECP2* наблюдаются тяжелая форма УО, некупируемые судороги и рецидивирующие инфекции. Дупликации в соседних теломерных областях, которые включают ген ингибитора диссоциации GDP 1 (*GDI1*) и ген gas-ассоциированного белка *RAB39B* (*RAB39B*), независимо связаны с УО, и многие сегментные дупликации, расположенные в этой области, могут опосредовать часто наблюдаемые интерстициальные дупликации.

Дупликации гена MECP2. Синдром Ретта, обусловленный делециями или мутациями последовательности в *MECP2* и характеризующийся периодом нормального развития в младенчестве, сопровождаемым микроцефалией и эпизодическим, но неуклонным течением неврологического ухудшения, стереотипными движениями рук, судорогами и спастичностью, весьма существенно отличается от проявлений пациентов с дупликацией *MECP2*. Лица с дупликацией гена *MECP2* имеют раннее начало гипотонии и прогрессирующую спастичность, поражающую нижние конечности. Кроме того, у 50% пораженных мужчин наблюдаются эпилептические припадки, и многие имеют предрасположенность к рецидивирующим инфекциям, в том числе и респираторным, которые часто требуют трахеостомии и искусственной вентилиции легких [52]. У них тяжелая форма УО, часто осложняющаяся судорогами, и большинство из них умирают в возрасте до 25 лет. Хотя первоначально

дупликация описывалась как X-сцепленный рецессивный синдром у мужчин, более поздние сообщения подтвердили возникновение ее у женщин, обычно выражающееся в инфантильной гипотонии, прогрессирующей до спастичности, тяжелой УО и проявлениях дефектов неврологического развития, включая расстройство аутистического спектра [40].

Дупликации с участием гена GDI1. В регионе Xq28 была идентифицирована дупликация размером 0.3 млн пн (chrX: 153.2–153.5 млн пн, NCBI36), содержащая не менее 11 генов и включающая кандидатный ген *GDI1* (OMIM 300104). У мужчин, помимо УО, наблюдались аномалия Денди–Уокера с гипоплазией мозжечка и агенезией мозолистого тела, судороги, микроцефалия, брахицефалия, широкий лоб, гипотелоризм и обратный эпикантус. У пациентов из разных семей наблюдалось от двух до пяти копий гена *GDI1*, при этом число его копий строго коррелировало с тяжестью клинических проявлений [51].

Дупликации с участием гена RAB39B. Еще один вариант дупликации включает в себя дистальную область размером 0.5 млн пн, содержащую не менее восьми генов, в том числе *RAB39B* (OMIM 300774), мутации которого вызывают отдельную форму УО (XLID72, OMIM 300271). Мужчины с такой дупликацией имели когнитивные нарушения, агрессивное и/или гиперактивное поведение, рецидивирующие ушные инфекции или пневмонию и легкие дисморфичные черты лица, включая высокий лоб, нависающие верхние веки, широкую переносицу и толстую нижнюю губу [53].

МОДИФИЦИРУЮЩАЯ РОЛЬ ИНАКТИВАЦИИ X-ХРОМОСОМЫ В ПРОЯВЛЕНИИ ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ X-СЦЕПЛЕННЫХ МУТАЦИЙ У ГЕТЕРОЗИГОТНЫХ НОСИТЕЛЬНИЦ

На манифестацию XLID у гетерозиготных носительниц мутаций в первую очередь влияет инактивация X-хромосомы (X-chromosome inactivation, XCI) – эпигенетический процесс, позволяющий уровнять дозу X-сцепленных генов. На очень раннем этапе развития эмбриона женского пола в каждой клетке происходит случайная инактивация либо отцовской, либо материнской X-хромосом, и схема инактивации передается всем дочерним клеткам посредством митоза. Это приводит к мозаичной экспрессии генов, сцепленных с X-хромосомой, у женщин, что может обеспечить защиту от болезней. Как правило, соотношение экспрессии материнских и отцовских аллелей у женщин составляет примерно 50 : 50; однако в некоторых случаях наблюдается отклонение, известное как асимметричная XCI (skewed XCI, sXCI). Обычно это соотношение составляет 80 : 20 или выше.

Женщины, как правило, менее восприимчивы к патогенным вариантам генов на активной X-хромосоме, поскольку этот вариант не экспрессируется во всех ее клетках (табл. 1). У большинства женщин X-сцепленные заболевания не проявляются, потому что 1) женщины не являются гомозиготами по патогенному варианту и 2) их клетки, в которых экспрессируется мутантный аллель, получают от клеток, в которых транскрибируют нормальный аллель, достаточное количество генного продукта, необходимого для выполнения основной функции. Достаточное количество нормального белка обеспечивается одним из двух способов. Либо клетки передают его клеткам с дефицитом, либо, если этот перенос между клетками не происходит, недостаток функционального белка может привести к тому, что клетки с дефицитом будут делиться менее эффективно и поэтому в конечном итоге их число будет значительно меньше, чем клеток, вырабатывающих нормальный белок. Тем не менее в различных тканях клетки различаются по своей способности переносить генные продукты, поэтому в тканях организма могут быть различия в способности нормальных клеток делиться или аномальных клеток выживать. В большинстве случаев 50% активности более чем достаточно, а для многих генов достаточно и меньшего количества продукта. Это легко объясняет почему многие заболевания, сцепленные с X-хромосомой, чаще всего не проявляются у женщин. Например, менее 5% фермента HPRT может изменить фенотип от тяжелой гиперурикемии, наблюдаемой у мужчин с синдромом Леша–Нихена (OMIM 300322), до подагры. У гетерозигот, несущих мутацию гена *HPRT1*, редко проявляются какие-либо признаки синдрома, включая подагру. В большинстве тканей этих женщин, кроме клеток крови, продукт реакции HPRT, инозиновая кислота, переносится из клеток, синтезирующих нормальный фермент, в клетки с дефицитом фермента благодаря щелевым контактам [54]. Недостаток инозиновой кислоты замедляет скорость деления клеток; нормальные клетки (поскольку вариант находится на их неактивной X) в конечном итоге заменяют дефектные [55]. Как следствие, гетерозиготные матери и сестры мужчин с синдромом Леша–Нихена имеют только нормальные клетки крови, а в других тканях мутантные клетки разделяют генные продукты, обеспечиваемые нормальными клетками. Совместное использование клетками белковых продуктов также происходит у женщин, гетерозиготных по вариантам, вызывающим X-сцепленные лизосомные заболевания. Лизосомы содержат множество ферментов, расщепляющих белки и липиды. Варианты генов, кодирующих эти ферменты, вызывают заболевания из-за накопления нерасщепленного материала в лизосомах пораженных людей. Клетки, имеющие дефицит этих ферментов у гетеро-

зигот, могут поглощать фермент, секретлируемый нормальными клетками, посредством эндоцитоза. Следовательно, потенциальные проявления у носителей мутантных вариантов лизосомных ферментов, кодируемых X-хромосомой, обычно блокируются за счет передачи этих ферментов от клеток, которые могут их производить, к тем, которые не могут [56].

В общем можно идентифицировать четыре паттерна X-инактивации у гетерозигот для X-сцепленных заболеваний: 1) случайная инактивация обычно связана с нормальным фенотипом; 2) случайная инактивация приводит к проявлениям заболевания, а нормальный фенотип проявляется только в случае смещения инактивации X-хромосомы (sXCI) в пользу нормального аллеля в экспрессирующей ткани; 3) всегда sXCI, поскольку мутантные клетки гибнут или не развиваются, или мигрируют к месту назначения; 4) постепенное sXCI из-за пролиферативного преимущества клеток дикого типа (или мутантных) в экспрессирующей ткани (рис. 2).

Смещение инактивации X-хромосомы часто связано с патологическим фенотипом у человека и может возникать по различным причинам, но одной из наиболее вероятных являются летальные мутации или микроструктурные aberrации X-хромосомы. Plenge et al. проанализировали характер инактивации при 20 различных формах XLID и обнаружили, что sXCI была характерна для ~50% семей [57]. Причем в случаях, когда sXCI составляет 80%, у женщины-носительницы не наблюдается даже минимальных клинических признаков заболевания. Авторы этого исследования сделали заключение, что мутации XLID представляют собой уникальный класс X-сцепленных мутаций, характеризующихся общим дефектом жизнеспособности или пролиферации клеток. Соответственно гены, связанные с развитием XLID как класс, могут влиять на жизнеспособность или пролиферацию клеток *in vivo* во многих типах тканей. В качестве примера можно привести описанный ранее ген *ATRX*, мутации которого ответственны за развитие нескольких форм XLID. Продукт этого гена участвует в ремоделировании хроматина, а значит и в регуляции транскрипции, пролиферации и развитии клеток [58]. В том случае, когда продукт X-сцепленного мутантного гена не влияет на пролиферацию, либо жизнеспособность клеток, инактивация X-хромосомы у носительниц имеет стохастический характер и клинические признаки заболевания проявляются слабо [59].

Кроме того, на клинические проявления X-сцепленных заболеваний у женщин влияют еще несколько факторов, таких как избегание X-инактивации и тип наследования мутантного варианта. Около 15% генов на X-хромосоме избегают инактивации

Таблица 1. Особенности проявления X-сцепленных заболеваний у мужчин и женщин

| Ген | X-сцепленное заболевание | Тип наследования | Проявление у мужчин | Проявление у женщин | sXCI | Ссылка |
|---------------|--|------------------|--|---|--------------|--------|
| <i>ABCD1</i> | Адренолейкодистрофия/адреномиелоневропатия | Рецессивный | Смерть в первом десятилетии/ прогрессирующая скованность и слабость в ногах, развитие когнитивных и поведенческих расстройств, начиная со 2-го десятилетия | Здоровые носители, адреномиелоневропатия с поздним началом | Есть | [80] |
| <i>AIFM1</i> | Спондилоэпиметафизарная дисплазия, X-сцепленная, с гипомиелинизирующей лейкодистрофией | Рецессивный | Гипомиелинизирующая лейкодистрофия | Здоровые носители | Есть | [81] |
| <i>ALG13</i> | Возрастная и эпилептическая энцефалопатия 36 | | Эпилептическая энцефалопатия с ранним началом, тяжелая умственная отсталость | Развивающаяся и эпилептическая энцефалопатия-36; здоровые носители | Нет | [82] |
| <i>ATRX</i> | Альфа-талассемия/УО | Доминантный | Тяжелая форма УО и дисморфические особенности | Мягкая форма УО | Нет | [83] |
| <i>CASK</i> | Умственная отсталость и микроцефалия с гипоплазией моста и мозжечка | Доминантный | УО, микроцефалия, мостик, гипоплазия мозжечка | Здоровые носители, РАС | Есть/нет | [84] |
| <i>CDKL5</i> | Ранняя детская эпилептическая энцефалопатия, ранняя смерть | Доминантный | Более мягкий фенотип, эпилепсия и глубокая идентификация | Тяжелая форма УО, эпилепсия с ранним началом, микроцефалия, менее тяжелая форма | Есть | [85] |
| <i>DLG3</i> | Умственная отсталость, X-сцепленная 90 | Рецессивный | Средняя, серьезная степень УО | Пораженные/непораженные | Есть/нет | [86] |
| <i>FMRI</i> | Синдром ломкой X-хромосомы | Доминантный | УО | Слабая степень УО | Нет | [87] |
| <i>IQSEC2</i> | Умственная отсталость, X-сцепленная 1/78 | Доминантный | Несиндромальная УО, эпилепсия | Некоторые трудности обучения, слабая форма УО с эпилепсией | Избегает XCI | [88] |

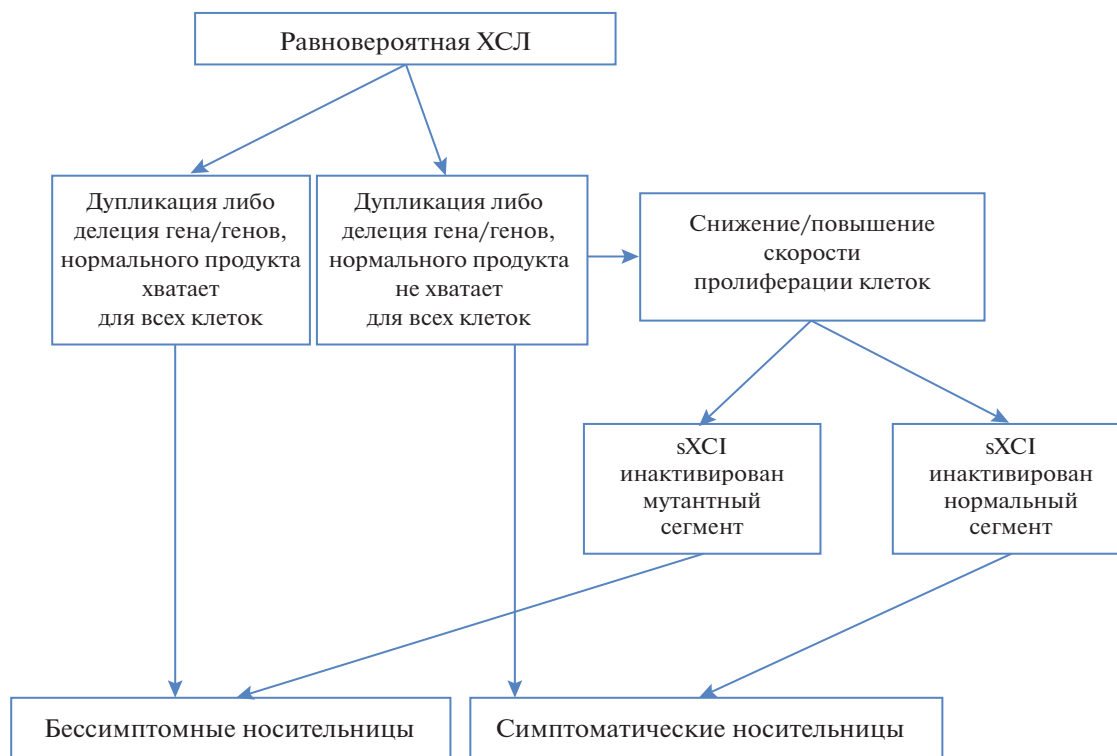


Рис. 2. Пути формирования различного характера инактивации X-хромосомы и ее влияние на проявление клинического фенотипа гетерозиготных носительниц.

вазии и экспрессируются как в активных, так и в неактивных хромосомах [OMIM. X-linked diseases. 2022. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/?term=X+linked+diseases>]. В табл. 1 показаны проявления клинического фенотипа некоторых X-сцепленных заболеваний у мужчин и женщин, тип наследования мутантного аллеля и характер инактивации X-хромосомы при этих заболеваниях у гетерозигот. В случае доминантного наследования мутации вариант может оказаться настолько летальным, что большинство мужчин с тяжелым дефицитом продукта гена умирают внутриутробно. В этом случае выживают только женщины-носительницы мутации или мозаичные мужчины (синдром Клайнфельтера). Заболевания, сцепленные с X-хромосомой, такие как пигментное недержание мочи или орофациальный дигитальный синдром типа 1, встречаются только у женщин или мозаичных мужчин [59]. Еще одним из классических примеров являются мутации гена *MECP2*. Известно, что этот ген преимущественно экспрессируется в головном мозге, где *MeCP2* связывается с метилированной ДНК и действует как репрессор транскрипции [60]. *MECP2* важен для пренатального нейрогенеза, постнатального развития синаптических связей и функций, синаптической пластичности и нервной функции взрослых [61]. Мутации или изменения копийности *MECP2* могут приводить к синдрому дупликации *MECP2*,

синдрому Ретта, тяжелой форме X-сцепленной УО у мужчин или РАС. Хотя на тяжесть заболевания и изменчивость фенотипа влияют как локализация и тип мутации, так и генетический фон, показано, что пациенты с одним и тем же патогенным вариантом имеют клинические проявления, варьирующие от РАС, УО до синдрома Ретта, в связи с чем было предложено, что ХСЛ является важным фактором для инициации заболевания и степени тяжести его течения. Zhang et al. описали китайскую семью с синдромом Ретта и тяжелой формой X-сцепленной УО [62]. Они сообщили о восьми индивидах с вариантами *MECP2* в шести семьях. Семья, состоящая из матери, дочери и сына, имела идентичный вариант *MECP2* с.397C>T. У дочери был диагностирован сохраненный речевой вариант RTT, у сына – X-сцепленная УО, а мать была здорова. Исследования ХСЛ показали, что у матери было смещение инактивации X в сторону нормального аллеля, а у дочери была случайная ХСЛ. В другой семье у матери и дочери был обнаружен тот же вариант *MECP2* с.397C>T. Однако, хотя у них обеих была случайная ХСЛ, дочери был поставлен диагноз RTT, тогда как у матери были трудности с обучением в детстве и аутистическое поведение [62].

Одной из основных причин смещения инактивации X-хромосомы является селекция клеток с одним из аллельных вариантов X-сцепленного

гена. Скорость потери дефицитных по продукту гена клеток может быть медленной или быстрой в зависимости от степени невыгодности варианта. Когда отбор интенсивен, т.е. когда он сильно неблагоприятен для клеток, экспрессирующих вариант, гетерозиготные организмы женского пола выигрывают, поскольку они быстро теряют все свои мутантные клетки. Иногда потеря вариантных клеток происходит так рано, что аномальные клетки никогда не могут проникнуть в ткань. В случаях иммунодефицитов, таких как синдром Вискотта–Олдрича (OMIM 301000), нарушение роста проявляется немедленно; мутантные предшественники В-клеток никогда не покидают костный мозг. К сожалению, иногда селективное преимущество имеет клетка с мутантным аллелем. По еще невыясненным причинам гетерозиготы с вариантом, вызывающим аденолейкодистрофию, медленно теряют свою популяцию клеток дикого типа [63]. Поэтому с возрастом у них обычно проявляются некоторые симптомы болезни.

Вероятно, CNV также могут быть одной из причин формирования смещения инактивации X-хромосомы, особенно в тех случаях, когда в них задействованы гены, контролирующие процессы деления клетки и поддержания клеточного гомеостаза. Так, например, в случае делеции Xq24 с потерей генов *SLC25A43*, *SLC25A5-AS1*, *SLC25A5*, *CXorf56*, *UBE2A*, *NKRF*, *SEPT6* и *MIR766* у облигатных носительниц делеции наблюдалось экстремальное sXCI (от 98 до 100%) и инактивированной, вероятнее всего, была мутантная X-хромосома [38].

Дупликация гена *MESP2* приводит к фенотипу с приобретением функции, который наследуется по рецессивному типу, преимущественно поражает мужчин и характеризуется УО от тяжелой до глубокой степени и ограниченной или отсутствующей речью. X-хромосома, несущая дупликацию, часто подавляется преимущественно у большинства бессимптомных носительниц, однако некоторые из них имеют мягкий фенотип, несмотря на инактивацию мутантной хромосомы. Симптоматические женщины со случайной XCI или смещением XCI с предпочтительной экспрессией дуплицированной хромосомы могут иметь различную степень тяжести и могут демонстрировать трудности в обучении в детстве, умственную отсталость, аутистические черты или психические симптомы [52].

В своем исследовании Di-Battista et al. выявили, что в случаях дупликации региона Xp11.23-p11.22, проявляющейся серьезными фенотипическими нарушениями, у больных гетерозигот наблюдается экстремально смещенная инактивация X-хромосомы, причем активной остается именно мутантная X-хромосома [64]. Авторы предположили, что увеличение дозы некоторых протоонкогенов (*SSXP6*, *SSXP7*, *ERAS*, *OTUD5*, *WDR13*, *SUV39H1*,

PIM2, *PRAF2*, *HDAC6* и *WDR45*), локализованных в регионе дупликации, дает селективное преимущество именно тому пулу клеток, который содержит активную X-хромосому с дупликацией.

Среди заболеваний с X-сцепленным наследованием и УО дупликация области Xp11.23p11.22 действительно является редким явлением, в литературе известно менее 90 случаев. Большинство из них были распознаны при рутинном применении методов aCGH, поскольку эти вариации числа копий (CNV) сильно различаются по размеру. Дупликации Xp11.22p11.23 выявлены у представителей обоих полов [44]. По мнению исследователей, при дупликации Xp11.22p11.23 причиной аномального фенотипа является функциональная дисомия генов, затронутых перестройкой [64]. Это кажется очевидным в случае пораженных мужчин; однако определение числа реально функционирующих копий у пациенток затруднено из-за X-инактивации. Не во всех опубликованных отчетах приводятся данные о X-инактивации, но примерно в половине исследованных случаев была обнаружена асимметричная X-инактивация с преимущественной инактивацией нормальной X-хромосомы в большинстве клеток. В случае дупликаций Xp11.23p11.22 все наоборот: у женщин с асимметричной X-инактивацией X-хромосома, несущая аллель дикого типа, замолкает, а аномальная активна в большинстве клеток. Следовательно, у женщин со случайной X-инактивацией развивается более мягкий фенотип [44].

Определение характера смещения инактивации X-хромосомы у гетерозиготных носительниц X-сцепленных мутаций является важным диагностическим критерием, который необходимо использовать в генетическом консультировании семей, имеющих X-сцепленные мутации.

ПРОБЛЕМЫ ДИАГНОСТИКИ И ИНТЕРПРЕТАЦИИ РЕЗУЛЬТАТОВ aCGH У ПАЦИЕНТОВ С X-СЦЕПЛЕННОЙ УМСТВЕННОЙ ОТСТАЛОСТЬЮ

Использование сравнительной геномной гибридизации (CGH) резко изменило подход к идентификации генетических изменений, которые могут объяснить УО и/или врожденные аномалии. В первую очередь при анализе геномного состава X-сцепленной CNV необходимо выявить кандидатные гены, ассоциированные с XLID. Для корректной интерпретации клинической значимости X-сцепленных субмикроскопических перестроек следует обращать внимание на особенности их сегрегации по материнской линии. Кроме того, нельзя забывать о необходимости анализа статуса инактивации X-хромосомы у гетерозиготных носительниц X-сцепленной перестройки. Чаще всего у носительниц либо совсем не проявляются, либо проявляются минимальные фенотипические осо-

бенности, присущие конкретной хромосомной мутации из-за случайной или асимметричной ХСІ [28]. Но в некоторых случаях именно симптоматические носительницы имеют sХСІ [59]. Поэтому анализ характера инактивации X-хромосомы рекомендуется также проводить всем пациенткам с УО, имеющим X-сцепленные CNV.

В отличие от делеций адекватная интерпретация клинической значимости дупликаций на X-хромосоме не всегда однозначна. Локализация в области дупликации генов, ассоциированных с XLID, не всегда означает, что дупликация является патогенетически значимой. В качестве примера можно рассмотреть несколько перестроек, интерпретация клинической значимости которых до настоящего времени остается проблематичной.

Субмикроскопическая дупликация региона Хр22.31 включает ген стероидсульфатазы (*STS*, OMIM 300747) (таблица в Приложении). Ген *STS* кодирует стероидную сульфатазу и дефицит транскрипта этого гена приводит к развитию X-сцепленного ихтиоза. Делеция этого гена и соседних областей обнаруживается у 90% пораженных людей и происходит из-за рекомбинации между низкокопийными повторами (LCR), расположенными рядом с генами *VCX*, которые фланкируют *STS* [65]. Некоторые пациенты с делецией также имеют УО и, кроме того, показана связь между дефицитом транскрипции *STS* и предрасположенностью к синдрому дефицита внимания и гиперактивности, аутизму и дефициту социальной коммуникации. Патогенетическая роль дупликации этого региона до настоящего времени не подтверждена. Первоначальные исследования на больших группах индивидов выявили, что частота дупликации составляет 0.15% в здоровой контрольной популяции и примерно 0.41% в когорте людей с аномальными фенотипами, включающими УО [66, 67]. Размер дупликации Хр22.31 варьирует от 149 тпн до 1.74 млн пн. Соотношение мужчин и женщин, несущих эту перестройку, составляет 0.7. У всех пациентов наблюдалась задержка интеллектуального развития и трудности с обучением в детстве, у 4/9 наблюдалась судорожная активность, у 3/9 была косолапость, 2/9 испытывали трудности с кормлением, 2/9 имели в анамнезе РАС и у 2/9 наблюдалась гипотония [65]. Инактивация X-хромосомы у симптоматичных и бессимптомных носительниц дупликации была и равновероятной, и асимметричной, но у 80% бессимптомных гетерозигот наблюдалась асимметричная ХСІ с инактивацией мутантного аллеля [66]. Однако в недавнем исследовании [68], в котором оценивались множественные показатели физического и психического здоровья, когнитивных функций и нейроанатомии у мужчин ($n = 414$) и женщин ($n = 938$) носителей 0.8–2.5 млн пн дупликаций, имеющих в своем составе ген *STS*, а также мужчин ($n = 192826$) и женщин ($n = 227235$) из Бри-

танского биобанка (UK Biobank), не подтвердили выводы более ранних исследований. Авторы этого исследования сделали выводы, что у мужчин-носителей дупликации наблюдается более высокая распространенность биполярного расстройства, снижение некоторых показателей, связанных с депрессией, и повышенное настроение. Когнитивные функции и успеваемость не различались между группами сравнения. Нейроанатомический анализ показал больший объем бокового желудочка и коры головного мозга у носителей дупликации [68]. Определение клинической значимости дупликации в регионе Хр22.31 является очень важным, так как эта дупликация часто встречается у пациентов с интеллектуальными расстройствами (1/470 мужчин и 1/240 женщин).

Еще одна дупликация, имеющая спорную патогенетическую значимость, — это внутригенная дупликация в гене *TSPAN7* (OMIM 300096), локализованном в регионе Хq11.2. Ген *TSPAN7* высоко экспрессируется в головном мозге, и некоторые генные мутации *TSPAN7* связаны с формированием X-сцепленной формы интеллектуальной недостаточности (XLID58; OMIM 300210). Связь моногенной микродупликации, затрагивающей ген *TSPAN7*, с патогенезом УО до сих пор остается неясной. Ранее Noor et al. показали, что внутригенная дупликация *TSPAN7* у пациента с аутизмом не приводит к изменению последовательности кДНК и соответственно не может быть причиной этого заболевания [69]. Кроме того, микродупликации гена были выявлены у некоторых здоровых индивидов [70]. Вместе с тем накопился определенный массив данных в пользу того, что эта дупликация является патогенетически значимой. Были проанализированы клинические фенотипы 29 пациентов базы данных DECIPHER [<https://www.deciphergenomics.org>], двух пациентов из нашего исследования и двух братьев с такой же дупликацией на X-хромосоме, описанных в литературе ранее [71, 72]. Суммарные нарушения интеллектуальной сферы, включающие УО, задержку психического развития, задержку развития речи и расстройства аутистического спектра, наблюдались практически у 100% пациентов, мышечная гипотония в 15% случаев. Также были зарегистрированы поражения головного мозга (гетеротопия серого вещества, атрофия мозжечка, энцефалопатии), патология слуха, аномалии кожи, гипермобильность суставов, ожирение. Кроме того, у 20% гемизиготных носителей дупликации встречались такие дисморфические особенности как аномальные формы черепа (микроцефалия, брахицефалия, долихоцефалия), приросшая мочка уха, гипертелоризм, недоразвитые крылья носа, короткий сглаженный фильтр, высокое небо, тремы зубов.

Фенотип носителя субмикроскопической хромосомной перестройки может быть вариabельным из-за ряда генетических механизмов, таких

как неполная пенетрантность, переменная экспрессивность и асимметричная X-инактивация. Доброкачественный полиморфный вариант также может вести себя по-разному в разных популяциях или с разным геномным фоном и может вызывать патологический фенотип при различных условиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Уникальность X-хромосомы состоит в большом количестве локализованных на ней генов, связанных с развитием и функционированием мозга, особенностями передачи мутаций по материнской линии, гемизиготным состоянием мутаций у мужчин и модифицирующим влиянием X-инактивации у гетерозигот. Все это делает X-сцепленные CNV особенными. Было установлено, что субмикроскопические изменения числа копий ДНК на X-хромосоме могут объяснить около 5% идиопатических случаев XLID [28]. Высокая частота мутаций на X-хромосоме в генах, ассоциированных с УО, подразумевает необходимость выявления максимального числа носителей мутаций в семьях для проведения инвазивной пренатальной диагностики и преимплантационного генетического тестирования. Однако для повышения эффективности молекулярно-генетической диагностики у пациентов с X-сцепленными интеллектуальными расстройствами недостаточно использование только сравнительной матричной геномной гибридизации или массового параллельного секвенирования. Важно обращать внимание и на характер эпигенетической инактивации X-хромосомы.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-65-00017, <https://rscf.ru/project/21-65-00017/>.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Leonard H., Wen X.* The epidemiology of mental retardation: Challenges and opportunities in the new millennium // *Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev.* 2002. V. 8. P. 117–134. <https://doi.org/10.1002/mrdd.10031>
2. *Penrose L.S.* A Clinical and Genetic Study of 1,280 Cases of Mental Defect. Issued by the Medical Research Council. London, 1938. 160 p.
3. *Lehrke R.G.* X-linked mental retardation and verbal disability // *Birth Defects Orig. Artic. Ser.* 1974. V. 10. P. 1–100.
4. *Herbst D.S., Miller J.R.* Nonspecific X-linked mental retardation II: The frequency in British Columbia // *Am. J. Hum. Genet.* 1980. V. 7. P. 461–469. <https://doi.org/10.1002/ajmg.1320070407>
5. *Ross M.T., Grafham D.V., Coffey A.J. et al.* The DNA sequence of the human X chromosome // *Nature.* 2005. V. 434. P. 325–337. <https://doi.org/10.1038/nature03440>
6. *Géczy J., Shoubridge C., Corbett M.* The genetic landscape of intellectual disability arising from chromosome X // *Trends in Genetics.* 2009. V. 25. № 7. P. 308–316. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2009.05.002>
7. *Stevenson R., Schwartz C., Rogers C.* Atlas of X-Linked Intellectual Disability Syndromes. N.Y.: Oxford Press, 2012. 368 p.
8. XLID Genetic Research – Greenwood Genetic Center / SC. Greenwood Genetic Center. <https://www.ggc.org/xlid-genetic-research>. Publ. 2022. Accessed April 1, 2022.
9. *Coffee B., Keith K., Albizua I. et al.* Incidence of Fragile X syndrome by newborn screening for methylated FMR1 DNA // *Am. J. Hum. Genet.* 2009. V. 85. № 4. P. 503–514. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2009.09.007>
10. *Воинова В.Ю., Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Юров И.Ю.* Алгоритм диагностики X-сцепленных форм умственной отсталости у детей // *Рос. вестник перинатологии и педиатрии.* 2016. Т. 61. С. 34–40. <https://doi.org/10.21508/1027-4065-2016-61-5-34-41>
11. *Lisik M.Z.* Health problems in females carriers of premutation in the FMR1 gene // *Psychiatr. Pol.* 2017. V. 51. № 5. P. 899–907. <https://doi.org/10.12740/PP/65778>
12. *Chiurazzi P., Tabolacci E., Neri G.* X-linked mental retardation (XLMR): From clinical conditions to cloned genes // *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2004. V. 41. № 2. P. 117–158. <https://doi.org/10.1080/10408360490443013>
13. *Wilson G., Richards C., Katz K., Brookshire G.* Non-specific X linked mental retardation with aphasia exhibiting genetic linkage to chromosomal region Xp11 // *J. Med. Genet.* 1992. V. 29. № 9. P. 629–634. <https://doi.org/10.1136/jmg.29.9.629>
14. *Wraith J., Scarpa M., Beck M. et al.* Mucopolysaccharidosis type II (Hunter syndrome): A clinical review and recommendations for treatment in the era of enzyme replacement therapy // *Eur. J. Pediatr.* 2007. V. 167. № 3. P. 267–277. <https://doi.org/10.1007/s00431-007-0635-4>
15. *Соловьёва Е.В., Минайчева Л.И., Склеймова М.М. и др.* Преимплантационное генетическое тестирование синдрома Хантера: клинический случай // *Мед. генетика.* 2021. Т. 20. № 9(230). С. 34–44. <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2021.09.34-44>
16. *Moog U., Smeets E.E., van Roozendaal K.E.P. et al.* Neurodevelopmental disorders in males related to the gene causing Rett syndrome in females (MECP2) // *Eur. J. Paediatric Neurology.* 2003. V. 7. № 1. P. 5–12. [https://doi.org/10.1016/S1090-3798\(02\)00134-4](https://doi.org/10.1016/S1090-3798(02)00134-4)
17. *Villard L.* MECP2 mutations in males // *J. Med. Genet.* 2007. V. 44. № 7. P. 417–423. <https://doi.org/10.1136/jmg.2007.049452>

18. *Gécz J., Mulley J.* Genes for cognitive function: developments on the X // *Genome Res.* 2000. V. 10. № 2. P. 157–163.
<https://doi.org/10.1101/gr.10.2.157>
19. *Chiurazzi P., Pirozzi F.* Advances in understanding – genetic basis of intellectual disability // *F1000Res.* 2016. V. 5. P. 599.
<https://doi.org/10.12688/f1000research.7134.1>
20. *Piton A., Redin C., Mandel J.* XLID-causing mutations and associated genes challenged in light of data from large-scale human exome sequencing // *Am. J. Hum. Genet.* 2013. V. 93. № 2. P. 368–383.
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2013.06.013>
21. *Kato M., Saitoh S., Kamei A. et al.* A longer polyalanine expansion mutation in the ARX gene causes early infantile epileptic encephalopathy with suppression-burst pattern (Ohtahara syndrome) // *Am. J. Hum. Genet.* 2007. V. 81. № 2. P. 361–366.
<https://doi.org/10.1086/518903>
22. *Wallerstein R., Sugalski R., Cohn L. et al.* Expansion of the ARX spectrum // *Clin. Neurol. Neurosurg.* 2008. V. 110. № 6. P. 631–634.
<https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2008.03.007>
23. *Schwartz C.E.* X-linked intellectual disability genetics // eLS. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd., 2015.
24. *Bassani S., Zapata J., Gerosa L. et al.* The neurobiology of X-linked intellectual disability // *The Neuroscientist.* 2013. V. 19. № 5. P. 541–552.
<https://doi.org/10.1177/1073858413493972>
25. *Pavlovsky A., Gianfelice A., Pallotto M. et al.* A postsynaptic signaling pathway that may account for the cognitive defect due to IL1RAPL1 mutation // *Current Biology.* 2010. V. 20. № 2. P. 103–115.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.12.030>
26. *Bassani S., Cingolani L.A., Valnegri P. et al.* The X-linked intellectual disability protein TSPAN7 regulates excitatory synapse development and AMPAR trafficking // *Neuron.* 2012. V. 73. № 6. P. 1143–1158.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.01.021>
27. *Bukalo O., Dityatev A.* Synaptic cell adhesion molecules // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2012. V. 970. P. 97–128.
https://doi.org/10.1007/978-3-7091-0932-8_5
28. *Bauters M., Weuts A., Vandewalle J. et al.* Detection and validation of copy number variation in X-linked mental retardation // *Cytogenet. Genome Res.* 2008. V. 123. № 1–4. P. 44–53.
<https://doi.org/10.1159/000184691>
29. *Froyen G., Van Esch H., Bauters M. et al.* Detection of genomic copy number changes in patients with idiopathic mental retardation by high-resolution X-array-CGH: Important role for increased gene dosage of XLMR genes // *Hum. Mutat.* 2007. V. 28. P. 1034–1042.
<https://doi.org/10.1002/humu.20564>
30. *Whibley A., Plagnol V., Tarpey P. et al.* Fine-scale survey of X chromosome copy number variants and indels underlying intellectual disability // *Am. J. Hum. Genet.* 2010. V. 87. № 2. P. 173–188.
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2010.06.017>
31. *Piton A., Michaud J., Peng H. et al.* Mutations in the calcium-related gene IL1RAPL1 are associated with autism // *Hum. Mol. Genet.* 2008. V. 17. № 24. P. 3965–3974.
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddn300>
32. *Franek K.J., Butler J., Johnson J. et al.* Deletion of the immunoglobulin domain of IL1RAPL1 results in non-syndromic X-linked intellectual disability associated with behavioral problems and mild dysmorphism // *Am. J. Med. Genet. Part A.* 2011. V. 155. № 5. P. 1109–1114.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.33833>
33. *Froyen G., Corbett M., Vandewalle J. et al.* Submicroscopic duplications of the hydroxysteroid dehydrogenase HSD17B10 and the E3 ubiquitin ligase HUWE1 are associated with mental retardation // *Am. J. Hum. Genet.* 2008. V. 82. № 2. P. 432–443.
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2007.11.002>
34. *López M., Pérez-Grijalba V., García-Cobaleda I., Domínguez-Garrido E.* A 22.5 kb deletion in CUL4B causing Cabezas syndrome identified using CNV approach from WES data // *Clin. Case Rep.* 2020. V. 8. № 12. P. 3183–3187.
<https://doi.org/10.1002/ccr3.3381>
35. *Nascimento R., Otto P., de Brouwer A., Vianna-Morgante A.* UBE2A, which encodes a ubiquitin-conjugating enzyme, is mutated in a novel X-linked mental retardation syndrome // *Am. J. Hum. Genet.* 2006. V. 79. № 3. P. 549–555.
<https://doi.org/10.1086/507047>
36. *Honda S., Orii K., Kobayashi J. et al.* Novel deletion at Xq24 including the UBE2A gene in a patient with X-linked mental retardation // *J. Hum. Genet.* 2010. V. 55. № 4. P. 244–247.
<https://doi.org/10.1038/jhg.2010.14>
37. *Thunstrom S., Sodermark L., Ivarsson L. et al.* UBE2A deficiency syndrome: A report of two unrelated cases with large Xq24 deletions encompassing UBE2A gene // *Am. J. Med. Genet. Part A.* 2014. V. 167. № 1. P. 204–210.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.36800>
38. *Tolmacheva E., Kashevarova A., Nazarenko L. et al.* Delineation of Clinical manifestations of the inherited Xq24 microdeletion segregating with sXCI in mothers: Two novel cases with distinct phenotypes ranging from UBE2A deficiency syndrome to recurrent pregnancy loss // *Cytogenet. Genome Res.* 2020. V. 160. № 5. P. 245–254.
<https://doi.org/10.1159/000508050>
39. *Verkerk A., Zeidler S., Breedveld G. et al.* CXorf56, a dendritic neuronal protein, identified as a new candidate gene for X-linked intellectual disability // *Eur. J. Hum. Genet.* 2018. V. 26. № 4. P. 552–560.
<https://doi.org/10.1038/s41431-017-0051-9>
40. *Neri G., Schwartz C., Lubs H., Stevenson R.* X-linked intellectual disability update 2017 // *Am. J. Med. Genet. Part A.* 2018. V. 176. № 6. P. 1375–1388.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.38710>
41. *van Asbeck E., Ramalingam A., Dvorak C. et al.* Duplication at Xq28 involving IKBKG is associated with progressive macrocephaly, recurrent infections, ectodermal dysplasia, benign tumors, and neuropathy // *Clin. Dysmorphol.* 2014. V. 23. № 3. P. 77–82.
<https://doi.org/10.1097/mcd.0000000000000038>
42. *Popovici C., Busa T., Boute O. et al.* Whole ARX gene duplication is compatible with normal intellectual de-

- velopment // *Am. J. Med. Genet. Part A*. 2014. V. 164. № 9. P. 2324–2327.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.36564>
43. *Maurin M., Arfeuille C., Sonigo P. et al.* Large duplications can be benign copy number variants: A case of a 3.6-mb Xq21.33 duplication // *Cytogenet. Genome Res.* 2017. V. 151. № 3. P. 115–118.
<https://doi.org/10.1159/000460278>
 44. *Czakó M., Till Á., Zima J. et al.* Xp11.2 duplication in females: Unique features of a rare copy number variation // *Front Genet.* 2021. V. 12.
<https://doi.org/10.3389/fgene.2021.635458>
 45. *Froyen G., Belet S., Martinez F. et al.* Copy-number gains of HUUWE1 due to replication- and recombination-based rearrangements // *Am. J. Hum. Genet.* 2012. V. 91. № 2. P. 252–264.
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2012.06.010>
 46. *Turner G., Gedeon A., Mulley J.* X-linked mental retardation with heterozygous expression and macrocephaly: pericentromeric gene localization // *Am. J. Med. Genet.* 1994. V. 51. № 4. P. 575–580.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.1320510456>
 47. *Regis S., Grossi S., Corsolini F. et al.* PLP1 gene duplication causes overexpression and alteration of the PLP/DM20 splicing balance in fibroblasts from Pelizaeus–Merzbacher disease patients // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease.* 2009. V. 1792. № 6. P. 548–554.
<https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2009.04.002>
 48. *Kumar R., Corbett M.A., Van Bon B.W. et al.* Increased STAG2 dosage defines a novel cohesinopathy with intellectual disability and behavioral problems // *Hum. Mol. Genet.* 2015. V. 24. P. 7171–7181.
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddv414>
 49. *Møller R., Jensen L., Maas S. et al.* X-linked congenital ptosis and associated intellectual disability, short stature, microcephaly, cleft palate, digital and genital abnormalities define novel Xq25q26 duplication syndrome // *Hum. Genet.* 2013. V. 133. № 5. P. 625–638.
<https://doi.org/10.1007/s00439-013-1403-3>
 50. *Schroer R.J., Beaudet A.L., Shinawi M. et al.* Duplication of OCRL and adjacent genes associated with autism but not Lowe syndrome // *Am. J. Med. Genet. Part A.* 2012. V. 158A. P. 2602–2605.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.35566>
 51. *Vandewalle J., Van Esch H., Govaerts K. et al.* Dosage-dependent severity of the phenotype in patients with mental retardation due to a recurrent copy-number gain at Xq28 mediated by an unusual recombination // *Am. J. Hum. Genet.* 2009. V. 85. № 6. P. 809–822.
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2009.10.019>
 52. *Brand B., Blesson A., Smith-Hicks C.* The impact of X-chromosome inactivation on phenotypic expression of X-linked neurodevelopmental disorders // *Brain Sci.* 2021. V. 11. № 7. P. 904.
<https://doi.org/10.3390/brainsci11070904>
 53. *El-Hattab A., Bournat J., Eng P. et al.* Microduplication of Xp11.23p11.3 with effects on cognition, behavior, and craniofacial development // *Clin. Genet.* 2010. V. 79. № 6. P. 531–538.
<https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2010.01496.x>
 54. *Cox R., Krauss M., Balis M., Dancis J.* Evidence for transfer of enzyme product as the basis of metabolic cooperation between tissue culture fibroblasts of Lesch-Nyhan disease and normal cells // *PNAS.* 1970. V. 67. № 3. P. 1573–1579.
<https://doi.org/10.1073/pnas.67.3.1573>
 55. *Migeon B.R.* Studies of skin fibroblasts from 10 families with HGPRT deficiency, with reference in X-chromosomal inactivation // *Am. J. Hum. Genet.* 1971. V. 23. № 2. P. 199.
 56. *Migeon B.R., Sprenkle J.A., Liebaers I. et al.* X-linked Hunter syndrome: The heterozygous phenotype in cell culture // *Am. J. Hum. Genet.* 1977. V. 29. № 5. P. 448.
 57. *Plenge R., Stevenson R., Lubs H. et al.* Skewed X-chromosome inactivation is a common feature of X-linked mental retardation disorders // *Am. J. Hum. Genet.* 2002. V. 71. № 1. P. 168–173.
<https://doi.org/10.1086/341123>
 58. *Gibbons R., McDowell T., Raman S. et al.* Mutations in *ATRX*, encoding a SWI/SNF-like protein, cause diverse changes in the pattern of DNA methylation // *Nat. Genet.* 2000. V. 24. № 4. P. 368–371.
<https://doi.org/10.1038/74191>
 59. *Migeon B.* X-linked diseases: susceptible females // *Genetics in Medicine.* 2020. V. 22. № 7. P. 1156–1174.
<https://doi.org/10.1038/s41436-020-0779-4>
 60. *Mellén M., Ayata P., Dewell S. et al.* MeCP2 binds to 5hmc enriched within active genes and accessible chromatin in the nervous system // *Cell.* 2012. V. 151. № 7. P. 1417–1430.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.11.022>
 61. *Srivastava S., Sahin M., Prock L.* Translational medicine strategies in drug development for neurodevelopmental disorders // *Handbook Behavioral Neurosci.* 2019. V. 29. P. 309–331.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803161-2.00022-9>
 62. *Zhang Q., Zhao Y., Bao X. et al.* Familial cases and male cases with MECP2 mutations // *Am. J. Med. Genet. Part B: Neuropsychiatric Genetics.* 2017. V. 174. № 4. P. 451–457.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32534>
 63. *Migeon B.R., Moser H.W., Moser A.B. et al.* Adrenoleukodystrophy: Evidence for X linkage, inactivation, and selection favoring the mutant allele in heterozygous cells // *PNAS.* 1981. V. 78. № 8. P. 5066–5070.
 64. *Di-Battista A., Meloni V., da Silva M. et al.* Unusual X-chromosome inactivation pattern in patients with Xp11.23-p11.22 duplication: report and review // *Am. J. Med. Genet. Part A.* 2016. V. 170. № 12. P. 3271–3275.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37888>
 65. *Esplin E., Li B., Slavotinek A. et al.* Nine patients with Xp22.31 microduplication, cognitive deficits, seizures, and talipes anomalies // *Am. J. Med. Genet. Part A.* 2014. V. 164. № 8. P. 2097–2103.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.36598>
 66. *Li F., Shen Y., Köhler U. et al.* Interstitial microduplication of Xp22.31: Causative of intellectual disability or benign copy number variant // *Eur. J. Med. Genet.* 2010. V. 53. № 2. P. 93–99.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2010.01.004>
 67. *Liu P., Erez A., Sreenath Nagamani S. et al.* Copy number gain at Xp22.31 includes complex duplication rear-

- rangements and recurrent triplications // *Hum. Mol. Genet.* 2011. V. 20. № 10. P. 1975–1988. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddr078>
68. *Gubb S., Brcic L., Underwood J. et al.* Medical and neurobehavioural phenotypes in male and female carriers of Xp22.31 duplications in the UK Biobank // *Hum. Mol. Genet.* 2020. V. 29 № 17. P. 2872–2881. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddaa174>
69. *Noor A., Gianakopoulos P.J., Fernandez B. et al.* Copy number variation analysis and sequencing of the X-linked mental retardation gene TSPAN7/TM4SF2 in patients with autism spectrum disorder // *Psychiatric Genet.* 2009. V. 19. № 3. P. 154–155. <https://doi.org/10.1097/YPG.0b013e32832a4fe5>
70. *Cai G., Edelmann L., Goldsmith J.E. et al.* Multiplex ligation-dependent probe amplification for genetic screening in autism spectrum disorders: Efficient identification of known microduplications and identification of a novel microduplication in ASMT // *BMC Med. Genomics.* 2008. V. 1. № 1. P. 1–14. <https://doi.org/10.1186/1755-8794-1-50>
71. *Utine G.E., Kiper P.Ö., Alanay Y. et al.* Searching for copy number changes in nonsyndromic X-linked intellectual disability // *Mol. Syndromology.* 2011. V. 2. № 2. P. 64–71. <https://doi.org/10.1159/000334289>
72. *Толмачева Е.Н., Кашеварова А.А., Беляева Е.О. и др.* Клинические эффекты моногенной дупликации Xp11.4 с вовлечением гена TSPAN7 // *Мед. генетика.* 2021. Т. 20. № 9. С. 45–47. <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2021.09.45-47>
73. *Isrie M., Froyen G., Devriendt K. et al.* Sporadic male patients with intellectual disability: Contribution of X-chromosome copy number variants // *Eur. J. Med. Genet.* 2012. V. 55. № 11. P. 577–585. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2012.05.005>
74. *Diociaiuti A., Angioni A., Pisaneschi E. et al.* X-linked ichthyosis: Clinical and molecular findings in 35 Italian patients // *Exp. Dermatol.* 2018. V. 28. № 10. P. 1156–1163. <https://doi.org/10.1111/exd.13667>
75. *Pavone P., Corsello G., Marino S. et al.* Microcephaly/trigonocephaly, intellectual disability, autism spectrum disorder, and atypical dysmorphic features in a boy with Xp22.31 duplication // *Mol. Syndromology.* 2018. V. 9. P. 253–258. <https://doi.org/10.1159/000493174>
76. *Mignon-Ravix C., Cacciagli P., Choucair N. et al.* Intra-genic rearrangements in X-linked intellectual deficiency: Results of a-CGH in a series of 54 patients and identification of TRPC5 and KLHL15 as potential XLID genes // *Am. J. Med. Genet. Part A.* 2014. V. 164. № 8. P. 1991–1997. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.36602>
77. *Grau C., Starkovich M., Azamian M. et al.* Xp11.22 deletions encompassing CENPVL1, CENPVL2, MAGED1 and GSPT2 as a cause of syndromic X-linked intellectual disability // *PLoS One.* 2017. V. 12. № 4. P. e0175962. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175962>
78. *Shimajima K., Sugawara M., Shichiji M. et al.* Loss-of-function mutation of collybistin is responsible for X-linked mental retardation associated with epilepsy // *J. Hum. Genet.* 2011. V. 56. № 8. P. 561–565. <https://doi.org/10.1038/jhg.2011.58>
79. *Ramocki M.B., Vayev Y.J., Peters S.U.* The MECP2 duplication syndrome // *Am. J. Med. Genet. Part A.* 2010. V. 152A. № 5. P. 1079–1088. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.33184>
80. *Wang Z., Yan A., Lin Y. et al.* Familial Skewed X chromosome inactivation in adrenoleukodystrophy manifesting heterozygotes from a Chinese pedigree // *PLoS One.* 2013. V. 8. № 3. P. e57977. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057977>
81. *Pandolfo M., Rai M., Remiche G. et al.* Cerebellar ataxia, neuropathy, hearing loss, and intellectual disability due to AIFM1 mutation // *Neurology Genet.* 2020. V. 6. № 3. P. e420. <https://doi.org/10.1212/nxg.0000000000000420>
82. *Hamici S., Bastaki F., Khalifa M.* Exome sequence identified a c.320A>G ALG13 variant in a female with infantile epileptic encephalopathy with normal glycosylation and random X inactivation: review of the literature // *Eur. J. Med. Genet.* 2017. V. 60. № 10. P. 541–547. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2017.07.014>
83. *Wada T., Sugie H., Fukushima Y., Saitoh S.* Non-skewed X-inactivation may cause mental retardation in a female carrier of X-linked α -thalassaemia/mental retardation syndrome (ATR-X): X-inactivation study of nine female carriers of ATR-X // *Am. J. Med. Genet. Part A.* 2005. V. 138A. № 1. P. 18–20. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.30901>
84. *Seto T., Hamazaki T., Nishigaki S. et al.* A novel CASK mutation identified in siblings exhibiting developmental disorders with/without microcephaly // *Intractable & Rare Diseases Res.* 2017. V. 6. № 3. P. 177–182. <https://doi.org/10.5582/irdr.2017.01031>
85. *Zhao Y., Zhang X., Bao X. et al.* Clinical features and gene mutational spectrum of CDKL5-related diseases in a cohort of Chinese patients // *BMC Med. Genet.* 2014. V. 15. № 1. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-15-24>
86. *Gieldon L., Mackenroth L., Betsheva-Krajcir E. et al.* Skewed X-inactivation in a family with DLG3-associated X-linked intellectual disability // *Am. J. Med. Genet. Part A.* 2017. V. 173. № 9. P. 2545–2550. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.38348>
87. *Kirchgesner C., Warren S., Willard H.* X inactivation of the FMR1 fragile X mental retardation gene // *J. Med. Genet.* 1995. V. 32. № 12. P. 925–929. <https://doi.org/10.1136/jmg.32.12.925>
88. *Wayhelova M., Ryzí M., Oppelt J. et al.* Novel familial IQSEC2 pathogenic sequence variant associated with neurodevelopmental disorders and epilepsy // *Neurogenetics.* 2020. V. 21. № 4. P. 269–278. <https://doi.org/10.1007/s10048-020-00616-3>

X-Linked CNV in Pathogenetics of Intellectual Disabilities

E. N. Tolmacheva^{a, *}, E. A. Fonova^a, and I. N. Lebedev^a

^a*Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center
of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, 634050 Russia*

**e-mail: kate.tolmacheva@medgenetics.ru*

The review considers monogenic and chromosomal variants associated with X-linked intellectual disability. The features of the development of the clinical phenotype in cases of various mutations are described. The focus is on X-linked CNVs – microdeletions and microduplications. The most common chromosomal microaberrations in patients with mental retardation are presented. The modifying influence of the process of X-chromosome inactivation on the phenotype of carriers of X-linked mutations is discussed. The modifying influence of the process of X-chromosome inactivation on the phenotype of carriers of X-linked mutations is discussed. Problems of interpretation of the clinical significance of the identified X-linked CNVs are considered.

Keywords: X-linked intellectual disability (XLID), microdeletions and microduplications of X-chromosome regions, copy number variations, X-chromosome inactivation.

**ОБЗОРНЫЕ
И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СТАТЬИ**

УДК 575.224.2

РОЛЬ СПЛАЙСИНГА В ПАТОГЕНЕЗЕ МОНОГЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ© 2022 г. Н. А. Скрябин¹, *, Д. И. Жигалина¹, В. А. Степанов¹¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, 634050 Россия

*e-mail: nikolay.skryabin@medgenetics.ru

Поступила в редакцию 04.04.2022 г.

После доработки 23.05.2022 г.

Принята к публикации 31.05.2022 г.

Несмотря на развитие технологий экзомного и полногеномного секвенирования и их рутинное использование при диагностике наследственных заболеваний, эффективность выявления патогенных генетических вариантов для методов на основе анализа ДНК составляет менее 50%. Одной из основных причин может являться неэффективность данных подходов при поиске генетических вариантов, ответственных за нарушение сплайсинга пре-мРНК. В этом обзоре рассматриваются результаты работ по поиску аномалий сплайсинга при наследственных орфанных заболеваниях с помощью РНК-секвенирования и возможности клинического применения данного метода.

Ключевые слова: РНК, орфанные болезни, мутации, сплайсинг, экспрессия.

DOI: 10.31857/S0016675822100083

Отличительной особенностью редких (орфанных) болезней является небольшая частота встречаемости в популяции. Однако число самих нозологий чрезвычайно велико и с каждым годом увеличивается. В мире, по экспертным оценкам, известно около 6172 редких заболеваний [1], большинство из них (71.9%) имеют в своей основе генетическую природу [2]. В онлайн базе данных менделевских наследственных заболеваний человека описано 5918 фенотипов различных наследственных нозологий с известными молекулярными механизмами развития патологического состояния, и еще более 3000 фенотипов заболеваний без выявленных молекулярных механизмов [3].

На настоящий момент общее количество больных орфанными болезнями в мире составляет примерно 3.5–5.9% от общего населения Земли, что соответствует от 263 до 446 млн человек [2]. При этом таких данных по Российской Федерации на данный момент нет. На основе данных среднеевропейских и среднемировых показателей распространенности орфанных заболеваний, а также численности населения РФ (146.9 млн человек по состоянию на 2018 г.), можно предположить, что потенциальное количество пациентов с редкими заболеваниями в РФ может составлять от 5.1 до 8.6 млн человек.

Другой особенностью данных заболеваний является чрезвычайно высокая гетерогенность как в отношении систем и органов, которые они поражают, так и в степени клинического проявления.

Все это в совокупности приводит к значительным сложностям диагностики орфанных болезней. Для пациента установление правильного диагноза в течение нескольких лет может быть сопряжено с прохождением множества диагностических тестов, а также посещением большого количества специалистов. В результате некоторые пациенты не доживают до постановки диагноза. С учетом гетерогенности наследственных орфанных болезней одним из условий в улучшении диагностики является расширение спектра используемых технологий, направленных на поиск известных наследственных мутаций и на картирование новых генов и генетических вариантов, связанных с развитием наследственных заболеваний.

Выявление этиологически значимых мутаций позволяет уточнить молекулярный диагноз у пациентов. Это необходимо для медико-генетического консультирования, поскольку позволяет оценить наследование патогенетически значимых мутаций, дает возможность выявлять носителей мутаций и семейные формы заболеваний.

Постановка точного молекулярного диагноза существенно улучшает возможность проведения профилактических мероприятий. Так, ранняя диагностика наследственных болезней обмена позволяет использовать заместительную терапию, что в свою очередь приводит к нормализации функций или снижению выраженности патологического процесса. Для некоторых наследственных заболеваний возможно внутриутробное лечение

(например, при некоторых ацидуриях, галактоземии). Развитие заболевания в настоящее время можно предотвратить путем коррекции (лечения) после рождения больного. Типичными примерами таких болезней могут быть галактоземия, фенилкетонурия, гипотиреоз и др.

Точная идентификация мутации при наследственных заболеваниях необходима для их пренатальной и преимплантационной диагностики. В результате пренатальной диагностики, в случае выявления мутаций у плода, проводится прерывание беременности, тем самым исключается рождение больных детей. Постановка диагноза и выявление носительства мутаций у родителей позволяет предложить пациентам процедуры преимплантационной генетической диагностики при планировании беременности с целью исключения патогенетически значимых наследственных дефектов, и, соответственно, снизить риск повторного рождения больных детей в семьях, что должно способствовать снижению груза наследственных заболеваний, затрат на лечение и реабилитацию пациентов.

ПОИСК МУТАЦИЙ В ДНК

Достижения в области секвенирования сделали возможным анализ всего экзона и генома, практически данные подходы стали рутинными инструментами врача-генетика. Эти достижения привели к значительному улучшению эффективности диагностики и увеличению числа идентифицируемых генов, лежащих в основе редких заболеваний. Одной из первых работ, в которой экзомное секвенирование было использовано для идентификации причинной мутации при наследственном заболевании является работа международной группы авторов под руководством американских исследователей из Медицинского института Говарда Хьюза [4]. С помощью экзомного секвенирования ими был установлен молекулярный диагноз у ребенка с подозрением на синдром Барттера. По результатам анализа была идентифицирована гомозиготная миссенс-мутация в гене *SLC26A3*, ответственном за развитие врожденной хлоридной диареи. Таким образом, был выставлен диагноз, отличный от направительного, что стало возможным за счет секвенирования всей кодирующей последовательности генома [4]. С тех пор экзомное секвенирование в клинической практике используется все чаще и значительно повысило эффективность молекулярной диагностики, сокращая “диагностическую одиссею” пациентов с моногенными заболеваниями.

В настоящее время несмотря на существенный прогресс в области развития технологий молекулярно-генетической диагностики орфанных заболеваний, остается много нерешенных проблем. Эффективность выявления патогенетически значимых мутаций с использованием передовых тех-

нологий, базирующихся на анализе ДНК, таких как экзомное и геномное секвенирование, составляет по разным оценкам от 30 до 50% [5, 6]. Так, группой американских ученых была проведена оценка диагностической ценности экзомного секвенирования у детей с моногенными заболеваниями. При анализе 40 клинических случаев генетические дефекты были выявлены у 12 (30%) пациентов, среди которых 47% мутаций ранее не упоминались в литературе. Кроме того, 36 пациентам был проведен анализ вторичных находок по отношению к основному диагнозу (“случайные” находки). В результате у трех пациентов (8%) были идентифицированы генетические варианты, приводящие к нарушениям, которые требуют медицинского вмешательства [5].

Схожая работа была проведена группой австралийских исследователей, в которой была оценена диагностическая ценность экзомного секвенирования для детей с наследственными болезнями, при этом молекулярный диагноз был поставлен в 52% случаев [6]. Кроме того, у 35% пациентов были выявлены диагнозы, отличающиеся от направительного, а у 26% была скорректирована тактика клинического ведения больного. Авторы также провели экономический анализ различных траекторий диагностики пациентов и установили, что экзомный анализ, выполненный при первичном обращении, мог привести к дополнительной экономии затрат в размере 9020 австралийских долларов по сравнению со стандартными подходами к диагностике моногенных болезней.

В одном из наиболее масштабных исследований по оценке эффективности экзомного секвенирования был проведен анализ 3040 пациентов. В результате общая диагностическая ценность экзомного секвенирования составила 28.8%. Стоит отметить, что при анализе только пробандов, диагностическая ценность составила 23.6%, а при анализе трех членов семьи – 31% [7]. Таким образом, анализ “трио” позволяет улучшить эффективность идентификации причинной мутации за счет выявления генетических вариантов *de novo*, что упрощает классификацию новых вариантов. Стоит отметить, что при этом стоимость исследования возрастает в три раза.

Использование полногеномного секвенирования, вопреки ожиданиям о значительном увеличении диагностической эффективности, существенно не улучшает ситуацию. В результате полногеномного секвенирования 103 пациентов из Канады с наследственными заболеваниями, молекулярный диагноз был выставлен у 41% пациентов [8]. Тем не менее использование такого подхода позволило идентифицировать у 18 пациентов мутации, расположенные в некодирующей последовательности ДНК. В метаанализе, проведенном исследователями из Оксфорда, было проведено сравнение

стоимости и эффективности экзомного и геномного секвенирования. Всего в работе были проанализированы данные 27 исследований с использованием экзомного секвенирования и три исследования секвенирования полного генома. В результате было показано, что в среднем эффективность секвенирования экзома составила 35%, а секвенирования генома — 49% [9].

В случаях, когда не удастся идентифицировать патогенные генетические варианты, возможен повторный анализ данных экзомного или геномного секвенирования через определенное время. В некоторых случаях это позволяет выявить варианты, которые не были обнаружены при первом анализе. Повышение диагностической ценности в данном случае обусловлено несколькими факторами [10]:

- открытие новых генов/вариантов, ассоциированных с заболеваниями;
- изменение классификации ранее выявленных вариантов вследствие расширения баз данных, проведения функциональных исследований;
- улучшение референсных геномов;
- развитие биоинформатических алгоритмов поиска вариантов, в том числе с использованием методов машинного обучения;
- анализ новых типов вариантов;
- сбор более подробных сведений о пациенте и/или возрастные изменения клиники пациента.

Таким образом, возможно повышение диагностической ценности экзомного/геномного секвенирования примерно на 10–20% [10, 11]. Несмотря на то, что в некоторых случаях такой подход не позволяет идентифицировать новые патогенетически значимые варианты [12].

Эффективность секвенирования как экзома, так и генома имеет свои ограничения. В большей степени это обусловлено тем, что методики, основанные на анализе ДНК, не позволяют идентифицировать мутации, которые не влияют на аминокислотный состав белка. Большинство патогенетически значимых генетических вариантов, идентифицированных в настоящее время, относятся к миссенс- и нонсенс-мутациям (84%), поскольку для их поиска использовалось секвенирование ДНК. Кроме того, на эффективность секвенирования ДНК влияют проблемы, связанные с повторяющимися последовательностями, GC-богатыми регионами, неполным охватом зондами кодирующей последовательности и сложностями с выравниванием коротких последовательностей, что приводит к пропуску вариантов внутри регионов с плохим охватом.

Одним из механизмов, приводящих к возникновению наследственных заболеваний и не детектируемых с помощью секвенирования ДНК, как изменяющих аминокислотную последова-

тельность белка, является нарушение сплайсинга. На настоящий момент при интерпретации геномных данных учитываются только варианты, затрагивающие канонические сайты сплайсинга. Доля таких генетических вариантов оценивается примерно в 8.7% [13]. При этом, группой исследователей из Великобритании и Испании с помощью математического моделирования было спрогнозировано, что 62% из всех патогенетически значимых генетических вариантов могут приводить к аномалиям сплайсинга РНК [14].

СПЛАЙСИНГ В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ

На настоящий момент известно около 20000 генов, кодирующих белки человека и около 150000 изоформ транскриптов. Следовательно, в среднем каждый ген человека имеет около семи различных изоформ [15]. Альтернативный сплайсинг характерен для 90% интронсодержащих генов человека [16]. Основным эффектором реакции сплайсинга РНК является сплайсосома, комплекс из сотен взаимодействующих белков и малых ядерных РНК (мяРНК), включая малые ядерные рибонуклеопротеины (мяРНП) U1, U2, U4, U5 и U6. Каждый интрон пре-мРНК фланкирован 5'-экзоном и 3'-экзоном и содержит различные консервативные сигналы сплайсинга, распознаваемые сплайсосомой: 5'-сайт сплайсинга, последовательность точки ветвления, 3'-сайт сплайсинга и полипиримидиновый тракт, расположенный на 5–40 пн выше 3'-конца интрона. Поскольку этих сигналов сплайсинга недостаточно для регуляции сплайсинга, точность сплайсинга пре-мРНК зависит от взаимодействий между транс-действующими факторами (белками и рибонуклеопротеинами) и цис-действующими элементами (последовательностями пре-мРНК), включая экзонный энхансер сплайсинга, экзонный сайленсер сплайсинга, интронный энхансер сплайсинга и интронный сайленсер сплайсинга. Все эти элементы оказывают свое воздействие, модулируя связывание факторов сплайсинга, которые, в свою очередь, положительно или отрицательно регулируют включение определенного экзона в состав зрелой мРНК [17].

Сплайсинг пре-мРНК играет важную роль в формировании разнообразия белков и функционировании различных клеток и тканей организма, что сказывается на роли нарушения нормальных паттернов сплайсинга в дисфункции генов и развитии заболеваний. Описаны заболевания, в основе которых лежат мутации, затрагивающие сплайсосомы. Так, мутации в гене *SNRPB*, кодирующем полипептиды В и В1 мяРНП, приводят к развитию церебро-косто-мандибулярного синдрома; мутации в гене *EFTUD2*, приводят к развитию одного из типов нижнечелюстно-лицевого дизостоза; мутации в гене *SF3B4* (Splicing Factor 3b Subunit 4) идентифицированы при синдроме Нагера и др.

[15]. Среди многих генов, ответственных за развитие пигментного ретинита, описаны шесть генов, участвующих в процессинге пре-мРНК (*PRPF3*, *PRPF4*, *PRPF6*, *PRPF8*, *PRPF31* и *SNRNP200*) [18]. Кроме того, показана роль альтернативного сплайсинга в развитии солидных злокачественных новообразований [19–21]. Патогенные генетические варианты в генах *SF3B1*, *U2AF1* и *U2AF2* приводят к развитию некоторых типов миелоидных новообразований [18].

Тем не менее основная роль сплайсинга в развитии различных патологий обусловлена не нарушением механизмов процессинга пре-мРНК, а изменениями в регуляторных последовательностях самих генов. Для поиска таких генетических вариантов одним из удобных и доступных инструментов является секвенирование РНК.

ПОИСК МУТАЦИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РНК-СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Однонуклеотидные варианты в некодирующих частях генов могут быть ответственны за значительную часть наблюдаемых вариаций фенотипов [22]. Точный сплайсинг пре-мРНК, необходимый для соответствующей трансляции белка, зависит от наличия консенсусных последовательностей, которые определяют границы между экзонами и интронами, и регуляторных последовательностей, распознаваемых механизмом сплайсинга. Точечные мутации в этих консенсусных последовательностях могут вызвать неправильное распознавание экзона и интрона и привести к образованию aberrантного транскрипта гена. Мутация сплайсинга может происходить как в интронах, так и в экзонах и нарушать существующие сайты сплайсинга или регуляторные последовательности сплайсинга, создавать новые или активировать криптические сайты сплайсинга. Обычно такие мутации приводят к ошибкам в процессе сплайсинга и могут привести к неправильному удалению интрона, пропуску или появлению дополнительного экзона [23].

На настоящий момент известно 23868 мутаций, приводящих к нарушениям сплайсинга, которые ответственны за наследственные заболевания человека. Частота таких генетических нарушений составляет 8.7% от всех мутаций, вызывающих наследственные болезни [13]. Вероятно, это число занижено, поскольку большинство описанных мутаций были идентифицированы с помощью секвенирования геномной ДНК без учета влияния мутаций на сплайсинг. Недавние исследования указывают на высокую частоту и важную роль мутаций сплайсинга в этиологии наследственных заболеваний, включая миодистрофию Дюшенна [24], муковисцидоз [25], болезнь Элерса–Данло [26], наследственные болезни сетчатки [27] и другие моногенные патологии. При анализе геном-

ной ДНК их можно легко не заметить и ошибочно классифицировать как синонимичные изменения или доброкачественные аминокислотные замены. Однако анализ РНК ясно показывает, что такие мутации оказывают значительное влияние на сплайсинг пре-мРНК. Предполагалось, что более крупные гены с длинными интронами более склонны к дефектам сплайсинга, но теперь стало очевидно, что значительное число мутаций в меньших генах также вызывает аномальный сплайсинг мРНК [28]. Кроме того, многие из выявленных сплайсинговых мутаций находятся вне канонических сайтов сплайсинга и могут быть легко пропущены при анализе геномной ДНК. Появляется все больше свидетельств того, что неправильная классификация мутаций является распространенной ошибкой, и общее число дефектов сплайсинга, вероятно, недооценивается [29].

В последние годы начинают накапливаться данные об использовании РНК-секвенирования для поиска патогенетически значимых мутаций у пациентов с моногенными заболеваниями (табл. 1). По данным некоторых исследователей, диагностическая ценность РНК-секвенирования находится в пределах 10–35% для разных групп пациентов [30]. Кроме того, было показано что использование РНК-секвенирования в качестве диагностического метода может помочь расширить наши знания о патогенетической значимости вариантов с неизвестной клинической значимостью (*variants of unknown significance*, VUS), идентифицированных с помощью секвенирования ДНК [17]. В табл. 1 представлена информация об исследованиях по поиску патогенных генетических вариантов с использованием РНК-секвенирования.

Так, группа исследователей из Массачусетса проанализировали 63 пациента с подозрением на моногенные мышечные заболевания (миопатии и мышечные дистрофии) и 184 контрольных образца из проекта The Genotype-Tissue Expression (GTEx). При этом у 13 пациентов были диагностированы патогенные варианты, влияющие на транскриптом (нонсенс-мутации и мутации в канонических сайтах сплайсинга), которые использовались в качестве положительного контроля. У 16 пациентов без установленного диагноза с помощью экзомного секвенирования были идентифицированы спрогнозированные варианты, влияющие на сплайсинг ($n = 4$), либо сильные ген-кандидаты ($n = 12$). У 34 пациентов не было выявлено ни того, ни другого. В качестве материала для исследования были использованы образцы биопсии мышц. По результатам проведенной работы в 35% случаев удалось выявить патогенные варианты. Наиболее высокая частота обнаружения патогенных генетических вариантов, пропущенных при экзомном и полногеномном секвенировании, была в группе пациентов со спрогнозированными кандидатными вариантами (50%) и

Таблица 1. Эффективность РНК-секвенирования при моногенных заболеваниях

| Авторы | Технология пробоподготовки | Источник РНК | Количество прочтений на образец | Количество обследованных пациентов | Эффективность выявления патогенных генетических вариантов |
|--------|--|--|--|---|---|
| [30] | Набор реактивов для обогащения полиА-транскриптами (Illumina TruSeq) | Скелетные мышцы | 50–100 млн прочтений на образец. Один образец был секвенирован с глубиной 500 млн чтений | 50 пациентов с генетически невыявленными редкими мышечными заболеваниями | 35% (17/50) |
| [36] | Набор реактивов TrueSeq Stranded mRNA Sample Prep Kit (Illumina) | Кровь | Примерно 50 млн чтений на образец | 94 пациента с подозрением на различные орфанные заболевания и невыясненным диагнозом | 7.5% (6/80) |
| [31] | Набор реактивов для обогащения полиА-транскриптами (TruSeq Illumina) | Фибробласты кожи | Примерно 50–100 млн чтений на образец | 25 семей с невыясненным генетическим диагнозом | 36% (9/25) |
| [33] | Набор реактивов Illumina TruSeq Stranded mRNA | Кровь, культивированные фибробласты кожи и клетки почечного эпителия | – | 155 случаев с менделевскими наследственными заболеваниями с невыясненным генетическим диагнозом по результатам полногеномного секвенирования | 13.5% (21/155) |
| [34] | – | Кровь, фибробласты кожи, мышцы или костный мозг | Примерно 50–100 млн чтений на образец | 48 семей (91 образец), для которых ранее было проведено геномное секвенирование | 15% (7/48) |
| [35] | Набор реактивов NEBNext Ultra Directional RNA Library Prep Kit для Illumina (New England Biolabs). | Кровь | – | Пациенты с 257 генетическими вариантами с неясной клинической значимостью | 33% (58/257) |
| [32] | Набор реактивов для обогащения полиА-транскриптами (Illumina) | 49 (42%) – фибробласты, 18 (16%) – кровь, 48 (42%) – две ткани | Примерно 30–50 млн чтений на образец | 115 пациентов: для 72 (63%) пациентов было проведено экзомное секвенирование, для 29 (25%) – геномное секвенирование, для 14 (12%) экзомное и геномное секвенирование | 12% (14/115) |

с сильным геном-кандидатом (66%). При этом даже в группе пациентов без гена-кандидата или кандидатного варианта в 21% случаев удалось детектировать мутации [30].

В аналогичной работе канадских исследователей на выборке пациентов с нейромышечными заболеваниями были продемонстрированы более значительные результаты по оценке вклада РНК-секвенирования в поиск новых патогенных мутаций. Было показано, что в 36% случаев (9/25) секвенирование РНК позволяет выявлять причинную мутацию у пациентов без установленного диагноза после экзомного секвенирования [31].

Исследователи из Медицинского Колледжа Бейлора (Хьюстон, США) провели транскриптомный анализ для 182 пациентов с наследственными заболеваниями без установленного диагноза после экзомного секвенирования и хромосомного микроматричного анализа, в результате в 17% случаев были идентифицированы патогенные генетические варианты [32]. Были выявлены патогенные мутации разных типов: мутации в канонических сайтах сплайсинга (7%), синонимичные мутации в экзонах (7%), мутации в интронах (43%), мутации в промоторах генов (7%) и вариации числа копий ДНК (36%).

Аналогичная работа была проведена S. Maddirevula с соавт., в которой был проведен полнотранскриптомный анализ 155 пациентов без идентифицированной мутации с помощью экзомного секвенирования. Генетические варианты, приводящие к потере транскриптов (transcript-deleterious variants, TDV), были найдены в 13.5% случаев. Кроме того, в данной работе был проведен анализ тканеспецифичной экспрессии генов с TDV. В частности были проанализированы образцы РНК, полученные из крови, фибробластов кожи и клеток почечного эпителия, выделенных из мочи. Было обнаружено, что 84.1% (195 из 232) проанализированных генов экспрессируются в РНК клеток крови, 85.8% (199 из 232) в РНК фибробластов и 90% (209 из 232) в РНК клеток почечного эпителия. Большинство генов экспрессировались во всех трех источниках РНК (75.5%), и только 2.6% (6 из 232 генов) не экспрессировались ни в одном из них [33].

Комбинирование методов оценки ДНК и РНК приводит к повышению диагностической значимости массового параллельного секвенирования, что было показано в работе американских исследователей из Калифорнийского университета. Они проанализировали 234 образца от пациентов без установленного диагноза с помощью экзомного, полногеномного и транскриптомного секвенирования. В результате диагностическая ценность методов анализа ДНК составила 31%, в то время как добавление РНК-секвенирования добавило еще 7%, расширив общую диагностиче-

скую ценность до 38%. Кроме того, с помощью РНК-секвенирования была установлена патогенетическая значимость для 18% генетических вариантов, найденных с помощью секвенирования ДНК [34]. H. Wai с соавт. с помощью количественного ПЦР в режиме реального времени и РНК-секвенирования проанализировали функциональную значимость 257 генетических вариантов с неясной клинической значимостью. В результате проведенной работы было установлено, что 58 вариантов (33%) были ассоциированы с аномалиями сплайсинга, т.е. была установлена патогенетическая значимость вариантов с неясной клинической значимостью [35].

Одной из основных сложностей при использовании РНК-секвенирования является тканеспецифичная экспрессия многих генов и мало- или недоступность для анализа многих целевых тканей. В то время как для анализа с помощью секвенирования ДНК используется наиболее доступный материал – периферическая кровь, для анализа транскриптома данный биологический материал может быть малоинформативным. Группа исследователей из Стэнфорда провела секвенирование РНК из цельной крови для 94 пациентов с подозрением на различные орфанные заболевания (неврологические, скелетно-мышечные и ортопедические, гематологические и офтальмологические), но с невыясненным диагнозом. Экспрессия в клетках крови была показана для 76% из 284 генов, связанных с неврологическими расстройствами, и 66% всех генов, чувствительных к потере функции (loss-of-function intolerance). В 7.5% случаев был выставлен диагноз, при этом гены-кандидаты были обозначены для еще 16.7%. Авторы идентифицировали кандидатные гены с использованием анализа уровня экспрессии генов, аллель-специфичной экспрессии и прогнозирования аномалий сплайсинга. Данная работа показала широкую применимость технологии РНК-секвенирования, даже для пациентов, у которых целевая ткань является труднодоступной [36].

Другим подходом для поиска аномалий сплайсинга является использование компьютерных программ и алгоритмов. Исследователями из лаборатории искусственного интеллекта компании “Illumina” была разработана компьютерная программа “SpliceAI” для предсказания аномалий сплайсинга *in silico* на основе данных секвенирования ДНК [37]. “SpliceAI” представляет собой остаточную нейронную сеть, имеющую сетевую архитектуру, состоящую из 32 расширенных сверточных слоев, которые могут распознавать детерминанты последовательности, охватывающие большие регионы генома. Для обучения нейронной сети авторы использовали аннотированные последовательности транскриптов пре-мРНК в GENCODE. При этом точность предска-

зания событий сплайсинга для транскриптов пре-мРНК в тестовом наборе данных составила 95%. Даже гены размером более 100 тпн, такие как *CFTR*, часто реконструируются с идеальной точностью [37]. Дальнейшее улучшение подходов для поиска аномалий сплайсинга с помощью моделирования *in silico* может повысить эффективность диагностики наследственных заболеваний. Кроме того, это позволит расширить наши представления о механизмах регуляции такого сложного процесса как сплайсинг пре-мРНК.

Вне зависимости от подходов и методов, которые используются для поиска аномалий сплайсинга, идентифицированные генетические варианты требуют верификации с использованием методов функционального анализа. Наиболее удобным инструментом для этого является использование системы минигенов. Минигенные конструкции представляют собой участки генов, содержащие экзон и фланкирующие интронные области с регуляторными элементами. Использование данной модельной системы позволяет определить патогенность различных генетических вариантов посредством оценки их влияния на эффективность сплайсинга, а также провести поиск экзонных и интронных энхансеров и сайленсеров сплайсинга. Кроме того, с помощью минигенов можно оценить роль сайтов сплайсинга в установлении базового уровня распознавания экзонов и для установления роли различных транс-регуляторов на отдельные события сплайсинга [38].

РНК-секвенирование имеет хорошие перспективы в качестве одного из инструментов для диагностики наследственных орфанных заболеваний. Тем не менее существует ряд вопросов, без ответов на которые могут возникнуть сложности с анализом и интерпретацией получаемых результатов. К таким вопросам можно отнести тканеспецифичную экспрессию генов и выбор тканей для анализа при различных нозологиях, оптимизацию и стандартизацию методики РНК-секвенирования и методов биоинформатической обработки данных, понимание необходимого уровня aberrантного сплайсинга для возникновения патологического фенотипа, влияние внутригенного и межгенного контекста на развитие аномалий сплайсинга. Для ответа на все данные вопросы необходимо более детальное изучение и глубокое понимание фундаментальных основ сплайсинга пре-мРНК. Знание этих механизмов позволит не только улучшить диагностику, но и значительно продвинуться в лечении орфанных болезней с помощью препаратов, модулирующих сплайсинг.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Федеральная научно-техническая программа развития генетических технологий на

2019–2027 гг., соглашение № 075-15-2021-1061, РФ 193021X0029).

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Orphanet (Электронный ресурс). URL: <https://www.orpha.net/>
2. *Nguengang Wakap S., Lambert D.M., Olry A. et al.* Estimating cumulative point prevalence of rare diseases: Analysis of the Orphanet database // *Eur. J. Hum. Genet.* 2020. V. 28. № 2. P. 165–173. <https://doi.org/10.1038/s41431-019-0508-0>
3. OMIM (Электронный ресурс). P. Online Mendelian Inheritance in Man. URL: <https://www.omim.org/>
4. *Choi M., Scholl U.I., Ji W. et al.* Genetic diagnosis by whole exome capture and massively parallel DNA sequencing // *Proc. Natl Acad. Sci.* 2009. V. 106. № 45. P. 19096–19101. <https://doi.org/10.1073/pnas.0910672106>
5. *Valencia C.A., Husami A., Holle J. et al.* Clinical impact and cost-effectiveness of whole exome sequencing as a diagnostic tool: A pediatric center's experience // *Front. Pediatr.* 2015. V. 3. <https://doi.org/10.3389/fped.2015.00067>
6. *Tan T.Y., Dillon O.J., Stark Z. et al.* Diagnostic impact and cost-effectiveness of whole-exome sequencing for ambulant children with suspected monogenic conditions // *JAMA Pediatr.* 2017. V. 171. № 9. P. 855. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2017.1755>
7. *Retterer K., Juusola J., Cho M.T. et al.* Clinical application of whole-exome sequencing across clinical indications // *Genet. Med.* 2016. V. 18. № 7. P. 696–704. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.148>
8. *Lionel A.C., Costain G., Monfared N. et al.* Improved diagnostic yield compared with targeted gene sequencing panels suggests a role for whole-genome sequencing as a first-tier genetic test // *Genet. Med.* 2018. V. 20. № 4. P. 435–443. <https://doi.org/10.1038/gim.2017.119>
9. *Schwarze K., Buchanan J., Taylor J.C. et al.* Are whole-exome and whole-genome sequencing approaches cost-effective? A systematic review of the literature // *Genet. Med.* 2018. V. 20. № 10. P. 1122–1130. <https://doi.org/10.1038/gim.2017.247>
10. *Robertson A.J., Tan N.B., Spurdle A.B. et al.* Reanalysis of genomic data: An overview of the mechanisms and complexities of clinical adoption // *Genet. Med.* 2022. P. 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.gim.2021.12.011>
11. *Liu P., Meng L., Normand E.A. et al.* Reanalysis of clinical exome sequencing data // *N. Engl. J. Med.* 2019. V. 380. № 25. P. 2478–2480. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1812033>

12. *Tan N.B., Stapleton R., Stark Z. et al.* Evaluating systematic reanalysis of clinical genomic data in rare disease from single center experience and literature review // *Mol. Genet. Genomic Med.* 2020. V. 8. № 11. P. 1–19. <https://doi.org/10.1002/mgg3.1508>
13. *Stenson P.D., Mort M., Ball E.V. et al.* The Human Gene Mutation Database: Towards a comprehensive repository of inherited mutation data for medical research, genetic diagnosis and next-generation sequencing studies // *Hum. Genet.* 2017. V. 136. № 6. P. 665–677. <https://doi.org/10.1007/s00439-017-1779-6>
14. *López-Bigas N., Audit B., Ouzounis C. et al.* Are splicing mutations the most frequent cause of hereditary disease? // *FEBS Lett.* 2005. V. 579. № 9. P. 1900–1903. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.02.047>
15. *Jiang W., Chen L.* Alternative splicing: Human disease and quantitative analysis from high-throughput sequencing // *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 2021. V. 19. P. 183–195. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2020.12.009>
16. *Kalsotra A., Cooper T.A.* Functional consequences of developmentally regulated alternative splicing // *Nat. Rev. Genet.* 2011. V. 12. № 10. P. 715–729. <https://doi.org/10.1038/nrg3052>
17. *Marco-Puche G., Lois S., Benítez J. et al.* RNA-seq perspectives to improve clinical diagnosis // *Front. Genet.* 2019. V. 10. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01152>
18. *Scotti M.M., Swanson M.S.* RNA mis-splicing in disease // *Nat. Rev. Genet.* 2016. V. 17. № 1. P. 19–32. <https://doi.org/10.1038/nrg.2015.3>
19. *Wu Z.-H., Tang Y., Zhou Y.* Alternative splicing events implicated in carcinogenesis and prognosis of thyroid gland cancer // *Sci. Rep.* 2021. V. 11. № 1. P. 4841. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84403-6>
20. *Marin J.J.G., Reviejo M., Soto M. et al.* Impact of alternative splicing variants on liver cancer biology // *Cancers (Basel)*. 2022. V. 14. № 1. P. 18. <https://doi.org/10.3390/cancers14010018>
21. *Kim B.-H., Woo T.-G., Kang S.-M. et al.* Splicing variants, protein-protein interactions, and drug targeting in hutchinson-gilford progeria syndrome and small cell lung cancer // *Genes (Basel)*. 2022. V. 13. № 2. P. 165. <https://doi.org/10.3390/genes13020165>
22. *Wachs A.S., Bohne J.* Two sides of the same medal: Noncoding mutations reveal new pathological mechanisms and insights into the regulation of gene expression // *WIREs RNA*. 2021. V. 12. № 1. P. 1–21. <https://doi.org/10.1002/wrna.1616>
23. *Anna A., Monika G.* Splicing mutations in human genetic disorders: Examples, detection, and confirmation // *J. Appl. Genet.* 2018. V. 59. № 3. P. 253–268. <https://doi.org/10.1007/s13353-018-0444-7>
24. *Habara Y., Takeshima Y., Awano H. et al.* In vitro splicing analysis showed that availability of a cryptic splice site is not a determinant for alternative splicing patterns caused by +1G>A mutations in introns of the dystrophin gene // *J. Med. Genet.* 2009. V. 46. № 8. P. 542–547. <https://doi.org/10.1136/jmg.2008.061259>
25. *Sanz D.J., Hollywood J.A., Scallan M.F. et al.* Cas9/gRNA targeted excision of cystic fibrosis-causing deep-intronic splicing mutations restores normal splicing of CFTR mRNA // *PLoS One*. 2017. V. 12. № 9. P. e0184009. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184009>
26. *Symoens S., Malfait F., Vlummens P. et al.* A novel splice variant in the n-propeptide of COL5A1 causes an eds phenotype with severe kyphoscoliosis and eye involvement // *PLoS One*. 2011. V. 6. № 5. P. e20121. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020121>
27. *Weisschuh N., Buena-Atienza E., Wissinger B.* Splicing mutations in inherited retinal diseases // *Prog. Retin. Eye Res.* 2021. V. 80. P. 100874. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2020.100874>
28. *Chen M., Manley J.L.* Mechanisms of alternative splicing regulation: Insights from molecular and genomics approaches // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2009. V. 10. № 11. P. 741–754. <https://doi.org/10.1038/nrm2777>
29. *Xiong H.Y., Alipanahi B., Lee L.J. et al.* The human splicing code reveals new insights into the genetic determinants of disease // *Science*. 2015. V. 347. № 6218. <https://doi.org/10.1126/science.1254806>
30. *Cummings B.B., Marshall J.L., Tukiainen T. et al.* Improving genetic diagnosis in Mendelian disease with transcriptome sequencing Genotype-Tissue Expression Consortium // *Sci. Transl. Med.* 2017. V. 9. № 386. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aal5209>
31. *Gonorazky H.D., Naumenko S., Ramani A.K. et al.* Expanding the boundaries of RNA sequencing as a diagnostic tool for rare mendelian disease // *Am. J. Hum. Genet.* 2019. V. 104. № 3. P. 466–483. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.01.012>
32. *Murdock D.R., Dai H., Burrage L.C. et al.* Transcriptome-directed analysis for Mendelian disease diagnosis overcomes limitations of conventional genomic testing // *J. Clin. Invest.* 2021. V. 131. № 1. <https://doi.org/10.1172/jci141500>
33. *Maddirevula S., Kuwahara H., Ewida N. et al.* Analysis of transcript-deleterious variants in Mendelian disorders: Implications for RNA-based diagnostics // *Genome Biol. Genome Biology*. 2020. V. 21. № 1. P. 145. <https://doi.org/10.1186/s13059-020-02053-9>
34. *Lee H., Huang A.Y., Wang L. et al.* Diagnostic utility of transcriptome sequencing for rare Mendelian diseases // *Genet. Med.* 2020. V. 22. № 3. P. 490–499. <https://doi.org/10.1038/s41436-019-0672-1>
35. *Wai H.A., Lord J., Lyon M. et al.* Blood RNA analysis can increase clinical diagnostic rate and resolve variants of uncertain significance // *Genet. Med.* 2020. V. 22. № 6. P. 1005–1014. <https://doi.org/10.1038/s41436-020-0766-9>
36. *Frésard L., Smail C., Ferraro N.M. et al.* Identification of rare-disease genes using blood transcriptome sequencing and large control cohorts // *Nat. Med.* 2019. V. 25. № 6. P. 911–919. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0457-8>
37. *Jaganathan K., Kyriazopoulou Panagiotopoulou S., McRae J.F. et al.* Predicting splicing from primary sequence with deep learning // *Cell*. 2019. V. 176. № 3. P. 535–548. e24. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.12.015>
38. *Cooper T.A.* Use of minigene systems to dissect alternative splicing elements // *Methods*. 2005. V. 37. № 4. P. 331–340. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2005.07.015>

The Role of Splicing in the Pathogenesis of Monogenic Diseases

N. A. Skryabin^a, *, D. I. Zhigalina^a, and V. A. Stepanov^a

^a*Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences, Tomsk, 634050 Russia*

**e-mail: nikolay.skryabin@medgenetics.ru*

Despite the development of exome and whole genome sequencing technologies and their routine use in the diagnosis of hereditary diseases, the efficiency of detection of pathogenic genetic variants for methods based on DNA analysis is less than 50%. One of the main reasons may be the inefficiency of these approaches in the search for genetic variants responsible for impaired pre-mRNA splicing. This review discusses the results of work on the search for splicing abnormalities in hereditary orphan diseases using RNA sequencing and the possibility of clinical application of this method.

Keywords: RNA, orphan diseases, mutations, splicing, expression.

КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВРОЖДЕННОГО СИНДРОМА УДЛИНЕННОГО ИНТЕРВАЛА QT

© 2022 г. А. Е. Постригань¹, *, Н. П. Бабушкина¹, Л. И. Свинцова²,
И. В. Плотникова², Н. А. Скрябин¹

¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук, Томск, 634050 Россия

²Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук, Томск, 634012 Россия

*e-mail: postrigan.anna@medgenetics.ru

Поступила в редакцию 04.04.2022 г.

После доработки 30.05.2022 г.

Принята к публикации 31.05.2022 г.

Синдром удлиненного интервала QT представляет собой редкое заболевание, обусловленное нарушениями работы ионных каналов сердца, основными проявлениями которого являются удлинение интервала QT на ЭКГ и желудочковые аритмии, которые могут стать причиной внезапной сердечной смерти в молодом возрасте. Диагностика и лечение данного синдрома представляют собой актуальную проблему, так как заболевание гетерогенно и для назначения эффективной терапии необходимо проведение молекулярно-генетической диагностики для точного определения типа этой патологии. В данном обзоре рассмотрены клинико-генетические особенности различных типов врожденного синдрома удлиненного интервала QT.

Ключевые слова: синдром удлиненного интервала QT, наследственные аритмии, *KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, молекулярно-генетическая диагностика.

DOI: 10.31857/S001667582210006X

Согласно данным Всемирной Организации Здравоохранения, сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) остаются главной причиной смертности, несмотря на постоянное совершенствование методов их диагностики и лечения. В Российской Федерации смертность от ССЗ представляет собой острую проблему, поскольку является одной из наиболее высоких в мире и составляет 614 на 100000 жителей в год [1]. Синдром удлиненного интервала QT (СУИQT) представляет собой наследственное заболевание, характеризующееся удлинением интервала QT на ЭКГ, приступами потери сознания на фоне возникновения полиморфной желудочковой тахикардии *torsades de pointes*, которая может перейти в фибрилляцию желудочков и стать причиной внезапной сердечной смерти (ВСС) [1, 2].

СУИQT может быть как врожденным, так и приобретенным. Причинами возникновения приобретенного СУИQT могут являться нарушения электролитного баланса (такие как гипокалиемия, гипокальциемия, гипомагниемия) и употребление ряда лекарственных препаратов (антипсихотики, антидепрессанты, антиаритмики, антибиотки, ди-

уретики, противогрибковые, противоопухолевые и др.) [2].

Распространенность СУИQT в популяции составляет, по последним данным, около 1 : 2000–1 : 3000 новорожденных, однако эти данные включают в себя только подтвержденные на ЭКГ случаи, фактическая частота гораздо выше. Основным диагностическим критерием СУИQT является удлинение скорректированного интервала QT (*QTc*), который определяется по формуле Базетта для оценки величины интервала QT относительно частоты сердечных сокращений. Кроме того, для диагностики СУИQT требуется анализ записи 24-часового холтеровского мониторирования и тестов с физической нагрузкой, сбор клинического и семейного анамнеза (при этом особого внимания заслуживают случаи внезапных смертей близких родственников в молодом возрасте), выявление патогенных генетических вариантов у пациента и членов его семьи с помощью молекулярно-генетического тестирования [3]. Трудности диагностики синдрома обусловлены неспецифической клинической картиной, высокой частотой скрытой формы, при которой невозможно диагностировать синдром при

Таблица 1. Формы синдрома удлиненного интервала QT

| Тип СУИQT | Хромосомный локус | Ген | Изменение ионного тока |
|-----------|-------------------|----------------|--|
| СУИQT1 | 11p15.5 | <i>KCNQ1</i> | Снижение калиевого тока |
| СУИQT2 | 7p35-36 | <i>KCNH2</i> | Снижение калиевого тока |
| СУИQT3 | 3p21-24 | <i>SCN5A</i> | Усиление натриевого тока |
| СУИQT4 | 4p25-27 | <i>ANK2</i> | Снижение кальциевого, натриевого и калиевого токов |
| СУИQT5 | 21q22.1-22.2 | <i>KCNE1</i> | Снижение калиевого тока |
| СУИQT6 | 21q22.1-22.2 | <i>KCNE2</i> | Снижение калиевого тока |
| СУИQT7 | 17q23.1-q24.2 | <i>KCNJ2</i> | Снижение калиевого тока |
| СУИQT8 | 12q13.3 | <i>CACNA1C</i> | Усиление кальциевого тока |
| СУИQT9 | 3p25.3 | <i>CAV3</i> | Усиление натриевого тока |
| СУИQT10 | 11q23.3 | <i>SCN4B</i> | Усиление натриевого тока |
| СУИQT11 | 7q21-q22 | <i>AKAP9</i> | Снижение калиевого тока |
| СУИQT12 | 20q11.21 | <i>SNTA1</i> | Усиление натриевого тока |
| СУИQT13 | 11q24.3 | <i>KCNJ5</i> | Снижение калиевого тока |
| СУИQT14 | 14q32.11 | <i>CALM1</i> | Снижение кальциевого тока |
| СУИQT15 | 2p21 | <i>CALM2</i> | Снижение кальциевого тока |
| СУИQT16 | 19q13.32 | <i>CALM3</i> | Снижение кальциевого тока |

помощи ЭКГ, сложностью и высокой стоимостью молекулярно-генетического тестирования.

У большинства пациентов первое аритмическое событие возникает в течение первых 20 лет жизни, однако возраст манифестации может варьировать в зависимости от типа синдрома [4]. Особую группу пациентов с СУИQT представляют собой дети до года: почти 10% младенцев, внезапно умирающих в первый год жизни, являются носителями генетических вариантов, вызывающих СУИQT [5]. Без генетического тестирования смерть младенца, внезапно умершего в первые месяцы жизни, как правило, трактуется как случай синдрома внезапной детской смерти, соответственно распространенность СУИQT может быть несколько занижена и в этой группе. Поэтому необходимо широко внедрять скрининг ЭКГ в первый месяц жизни для выявления младенцев с СУИQT и выделения их в группу риска по ВСС [5].

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВРОЖДЕННЫХ ФОРМ СУИQT

В настоящее время идентифицировано 16 различных типов врожденного синдрома удлиненного интервала QT. В основе патогенеза всех типов СУИQT лежат нарушения работы ионных каналов, в результате которых происходят патологические изменения скорости ионных токов, также изменяется продолжительность потенциала действия (табл. 1).

Известно, что клетки сердца обладают способностью к генерации и распространению потенци-

ала действия (ПД). ПД формируется благодаря движению ионов через клеточную мембрану, в результате которого клетка переходит из состояния покоя в активированное состояние (фаза деполяризации) и обратно к мембранному потенциалу покоя (фаза реполяризации). Все эти процессы тесно опосредуются множеством ионных каналов и регуляторных белков: формирование фаз является следствием синергической активации и инактивации нескольких потенциал-зависимых ионных каналов, обеспечивающих избирательное проникновение ионов (натриевых, калиевых и кальциевых) [6]. Малейшее изменение генерации, распространения импульсов или продолжительности ПД является основой нарушения сердечного ритма. Интервал QT отражает продолжительность общей электрической активности желудочков, включая деполяризацию и реполяризацию, а его удлинение — замедленную и асинхронную реполяризацию миокарда желудочков [1].

Мутации в генах ионных каналов кардиомиоцитов вызывают либо их функциональные изменения, либо полное прекращение работы. Для разных типов СУИQT характерны различия в тяжести течения и клинических проявлений, в зависимости от того, какой именно канал повреждается. Установлено, что риск сердечных событий значительно выше у пациентов с СУИQT 1-го и 2-го типов, чем среди лиц с СУИQT типа 3 [7]. Однако несмотря на меньшую встречаемость аритмических событий в группе пациентов с СУИQT 3-го типа, у них выявлена большая летальность. Так, в исследовании W. Zareba с соавт. было показано,

что смерть во время синкопе, сопровождающегося желудочковой аритмией, была зарегистрирована у 20% у пациентов с СУИQT 3 и только в 4% случаев — у пациентов с СУИQT 1-го и 2-го типов [7].

Большая часть форм СУИQT вызывается патогенными или вероятно патогенными нуклеотидными заменами в генах, кодирующих различные субъединицы потенциал-зависимых калиевых, кальциевых, натриевых каналов, а также в генах белков-модификаторов работы этих каналов.

ФОРМЫ СУИQT, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ НАРУШЕНИЕМ РАБОТЫ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ

Большая часть типов СУИQT вызывается снижением калиевого тока (табл. 1), причем в основном — мутациями в генах потенциал-зависимых калиевых каналов (*KCNQ1*, *KCNH2*, *KCNE1*, *KCNE2*, *KCNJ2*, *KCNJ5*).

СУИQT1 является наиболее частой формой — до 30–35% от всех случаев врожденного синдрома удлиненного QT наследуется по аутосомно-доминантному типу. Эта форма обусловлена патогенными/вероятно патогенными вариантами в гене, кодирующем калиевый потенциал-зависимый канал подсемейства Q (*KCNQ1*) [3]. Ген *KCNQ1* локализован в коротком плече 11-й хромосомы, содержит 19 экзонов и охватывает более 400 тыс. пар нуклеотидов (тпн) [8]. Белок *KCNQ1* является порообразующей субъединицей канала IKs (рис. 1) и осуществляет регуляцию продолжительности потенциала действия миокарда [9]. Внешний калиевый ток, генерируемый комплексом белков *KCNQ1/KCNE1*, является одним из токов реполяризации, способствующих прекращению ПД [9]. В настоящее время описано более 600 вариантов нуклеотидной последовательности в гене *KCNQ1*, вызывающих СУИQT1, от локализации конкретной замены в структуре ионного канала зависит вероятность сердечных приступов [3]. Так, локализация в структуре С-петли представляет наивысший риск остановки сердца или ВСС [3]. Один из наиболее частых вариантов — однонуклеотидная замена А341V. Это миссенс-мутация, при которой происходит замена аланина на валин в положении 341 в трансмембранном домене S6, связанная с тяжелым течением СУИQT1 [10]. У носителей данного варианта описано более раннее проявление симптомов, большая продолжительность интервала QTc и высокая вероятность ВСС при бессимптомной форме. Р. Vriink с соавт. связывали вышеописанные проявления со снижением у носителей величины реполяризующего тока IKs примерно на 50%, также было установлено, что большинство эпизодов аритмии с летальным исходом у пациентов с СУИQT1 связано с физическими нагрузками и эмоциональным стрессом [11].

СУИQT2 — второй по распространенности подтип синдрома, наследуется по аутосомно-доминантному типу и встречается у 25–30% пациентов [3]. Причиной заболевания являются патогенные и вероятно патогенные варианты нуклеотидной последовательности в гене *KCNH2* (*HERG*). Ген локализован в длинном плече седьмой хромосомы, содержит 16 экзонов длиной от 100 до 553 пар нуклеотидов (пн) [12]. Ген кодирует порообразующую субъединицу калиевого канала задержанного выпрямления (*hERG*), который играет существенную роль в окончательной реполяризации потенциала действия желудочков сердца (рис. 1). Калиевый канал *hERG* состоит из четырех идентичных альфа-субъединиц, образующих поры в цитоплазматической мембране, каждая субъединица включает шесть трансмембранных альфа-спиралей. Спираль S4 содержит положительно заряженный аргинин или лизин и действует как чувствительный к напряжению датчик, который позволяет каналу изменять свою конформацию между проводящим и непроводящим состояниями (так называемое “стробирование”) [13]. Стробирование представляет собой процесс перехода ионного канала между открытым и закрытым состояниями. Когда ионные каналы находятся в закрытом состоянии, они непроницаемы для ионов и не проводят электрический ток. В открытом состоянии каналы, напротив, проводят электрический ток и позволяют определенным ионам (в зависимости от типа канала) проходить через них и таким образом попадать через плазматическую мембрану в клетки. В норме за счет механизма стробирования осуществляется естественное подавление аритмий. Нарушение этого процесса объясняет увеличение частоты ВСС у пациентов с СУИQT2 [14]. М. Sanguinetti с соавт. изучили биофизические свойства калиевого канала IKg и его чувствительность к различным фармакологическим агентам, а также показали связь белка *KCNH2* с возникновением лекарственно индуцированных аритмий. Лекарственная блокировка *KCNH2* и калиевого канала IKg в сочетании с гипокалиемией провоцируют желудочковую аритмию пируэтного типа — такую же, как при врожденной форме СУИQT2 [15]. Формирование дефектного белка при врожденном СУИQT2 приводит к нарушению функции канала: в зависимости от типа замены калиевый ток может как уменьшаться и вызывать удлинение интервала QT, так и увеличиваться, что приводит к укорочению интервала QT и другому наследственному заболеванию — синдрому короткого интервала QT [16]. СУИQT2 проявляется на поверхностной электрокардиограмме в виде раздвоенного асимметричного низкоамплитудного зубца Т [3]. Показано, что СУИQT2 представляет наибольшую опасность для женщин в первые девять месяцев после родов, это связано с действием нескольких триггеров. Про-

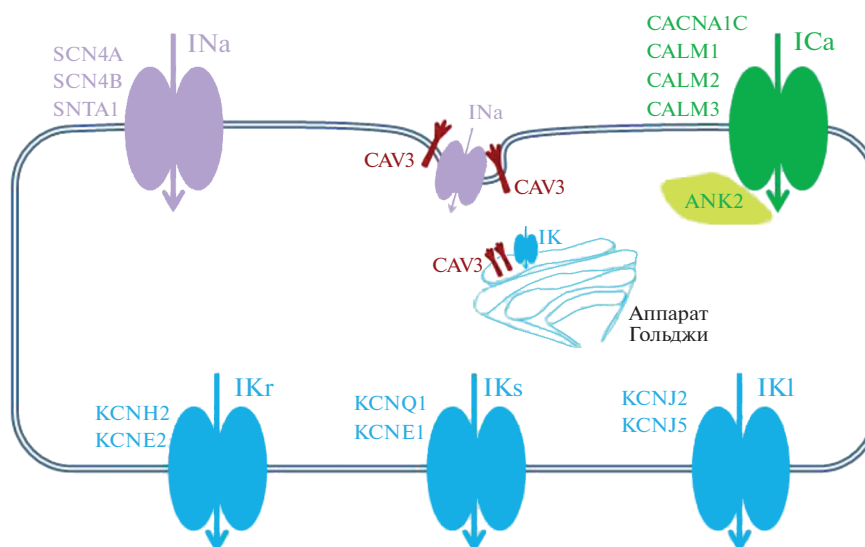


Рис. 1. Схематичное расположение ионных каналов в кардиомиците. I_{Na} – входящий натриевый ток, осуществляется через потенциал-зависимые натриевые каналы, локализованные в цитоплазматической мембране кардиомиоцита; SCN4A, SCN4B, SNTA1 – белковые субъединицы натриевых каналов; CAV3 – белок кавеолин, локализован в кавеолах в цитоплазматической мембране и аппарате Гольджи; I_{Ca} – входящий кальциевый ток, осуществляется через потенциал-зависимые кальциевые каналы, локализованные в цитоплазматической мембране кардиомиоцита; CACNA1C – белковая субъединица кальциевого канала; CALM1, CALM2, CALM3 – белки-регуляторы работы кальциевых каналов; ANK2 – белок, стабилизирующий работу всех типов ионных каналов; I_{Kr} – быстрый калиевый ток задержанного выпрямления; I_{Ks} – медленный калиевый ток задержанного выпрямления; KCNQ1, KCNE1 – белковые субъединицы калиевого канала; I_{K1} – калиевый ток аномального выпрямления; KCNJ2, KCNJ5 – белковые субъединицы калиевого канала [75].

воцирующими факторами возникновения жизнеугрожающих аритмий являются резкие громкие звуки, испуг, стресс и физическая нагрузка. Приступы аритмии могут возникать как во время нагрузки, так и в покое [3].

СУИQT5 обусловлен патогенными и вероятно патогенными заменами в гене *KCNE1*. Тип наследования – аутосомно-доминантный. Ген кодирует регуляторную субъединицу калиевых потенциал-зависимых каналов подсемейства E, содержит три экзона (рис. 1) [12]. Белок *KCNE1* состоит из 129 аминокислотных остатков, трансмембранного домена и фланкирующей С-концевой последовательности. Бета-субъединицы белка *KCNE1* связываются с альфа-субъединицами *KCNQ1* и белком *KCNH2*. Образующиеся в результате объединения калиевые каналы задержанного выпрямления индуцируют селективную проницаемость для ионов калия за счет деполяризации мембраны, таким образом белок *KCNE1* является одним из центральных регуляторов частоты сердечных сокращений и сердечного ритма [17]. Впервые связь синдрома удлиненного интервала QT с *KCNE1* продемонстрировали L. Bianchi с соавт. в 1995 г., этими же авторами *СУИQT5* был выделен как отдельная форма синдрома. Было показано, что патогенные замены в гене *KCNE1* приводят к дефекту белка, который, в свою очередь, продуцирует калиевые токи с измененным

стробированием и уменьшенными амплитудами, а также подавляет токи *KCNQ1* и *KCNH2*, что в итоге может приводить к более тяжелому клиническому фенотипу [18]. В дальнейших исследованиях у части пациентов с лекарственно индуцированным *СУИQT* были обнаружены миссенс-мутации в гене *KCNE1* в гетерозиготной форме, отсутствующие у здоровых людей [19].

СУИQT6 встречается достаточно редко (в 1–2% случаев) [12, 20]. *СУИQT 6*-го типа обусловлен патогенными/вероятно патогенными вариантами нуклеотидной последовательности в гене *KCNE2*, наследуется по аутосомно-доминантному типу. Ген кодирует белок *KCNE2* (регуляторная субъединица 2 подсемейства E калиевых потенциал-зависимых каналов), содержит два экзона. *KCNE2* представляет собой интегральную мембранную субъединицу, которая, как и *KCNE1*, объединяется с порообразующим белком *KCNH2* и оказывает влияние на его функции (рис. 1). Ген *KCNE2* расположен в длинном плече 21-й хромосомы, в том же регионе, что и ген *KCNE1*. Гены *KCNE2* и *KCNE1* сходны между собой – их открытые рамки считывания идентичны на 34%, что указывает на их общее происхождение [21]. Каналы, образованные мутантными субъединицами *KCNE2* и *KCNH2*, показали более медленную активацию, более быструю инактивацию и повышенную чувствительность к лекарствам [21].

СУИQT7 обусловлен патогенными вариантами в гене *KCNJ2* и наследуется по аутосомно-доминантному типу. Ген *KCNJ2* кодирует интегральный мембранный белок *KCNJ2* (калиевый канал внутреннего выпрямления подсемейства J) (рис. 1). *KCNJ2* формирует входящий калиевый ток, участвует в генерации ПД нейронов и кардиомиоцитов. Активность и функционирование каналов критически зависят от взаимодействия с фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфатом [22]. Мутации *KCNJ2* приводят к нарушению этого взаимодействия, в результате чего калиевый ток снижается. Снижение калиевого тока вызывает удлинение терминальной фазы ПД миокарда, формируются спонтанные аритмии [23]. Ген *KCNJ2* картирован в длинном плече хромосомы 17, содержит два экзона [24]. Патогенные замены в этом гене приводят к синдрому Андерсена–Тавила, который характеризуется наличием у пациента триады симптомов: эпизоды периодического паралича, признаки дисморфогенеза, желудочковые нарушения ритма сердца, а также удлинение интервала QT [25].

СУИQT13 обусловлен патогенными вариантами в гене *KCNJ5*. Ген локализован в длинном плече 11-й хромосомы, состоит из 500 тпн, содержит два экзона [26]. Наиболее широко экспрессируется в миокарде и скелетных мышцах, кодирует белок калиевого канала внутреннего выпрямления подсемейства J (рис. 1) [27, 28]. Канал чувствителен к G-белкам, активируется путем их взаимодействия с цитоплазматическими N и C концами. Белки *KCNJ* высокоселективны к ионам калия, могут образовывать высокоактивные гетеромультимеры путем спаривания друг с другом [29]. Y. Yang с соавт. была также установлена связь замены G387R с синдромом удлиненного интервала QT. Данный вариант нуклеотидной последовательности локализован в высококонсервативном остатке, ингибирует работу калиевых каналов внутреннего выпрямления путем задержки реполяризации желудочков, что приводит к значительному снижению проводимости и удлинению интервала QT. ЭКГ при *СУИQT13* отличается от прочих типов синдрома наличием выступающего зубца U. Вариант G387R был идентифицирован в китайской семье с *СУИQT*, причем как у индивидов с клиническими проявлениями, так и у бессимптомных носителей, что указывает на наличие неполной пенетрантности [27].

Синдром Джервела и Ланге-Нильсена (JLNS) является относительно редкой формой синдрома удлиненного интервала QT, представляет собой аутосомно-рецессивное заболевание, клинически проявляющееся глубокой врожденной нейросенсорной тугоухостью и выраженным удлинением интервала QTc [3]. *JLNS* возникает в результате гомозиготных или компаунд-гетерозиготных мутаций в генах *KCNQ1* или *KCNE1*. *JLNS* представляет собой наиболее тяжелую и прогностически не-

благоприятную форму *СУИQT*: около 90% пациентов имеют выраженную симптоматику, ВСС наступает более чем в 25% случаев, несмотря на терапию бета-адреноблокаторами. Кроме того, *JLNS* манифестирует в достаточно раннем возрасте, у 15% пациентов приступы случаются уже в первый год жизни, у 50% – в течение первых трех лет, к 18 годам симптомы присутствуют у 90% [30].

СУИQT11 также характеризуется изменением калиевого тока, обусловленным патогенными заменами в гене *AKAP9*. Данный тип синдрома наследуется по аутосомно-доминантному типу. Ген *AKAP9* локализован в длинном плече седьмой хромосомы, содержит 51 экзон и включает более 170 тпн [31]. Ген кодирует якорный белок киназы A, основная функция которого состоит в удержании холоферментов в определенных клеточных компартментах путем связывания с протеинкиназой A. В результате замен в *AKAP9* (преимущественно миссенс-мутаций) происходит изменение процессов фосфорилирования калиевого потенциал-зависимого канала и нарушение его работы [32]. Впервые связь гена *AKAP9* с *СУИQT11* была показана L. Chen с соавт. – исследователи идентифицировали миссенс-мутацию на C-конце *KCNQ1*-связывающего домена в гене *AKAP9* [33]. *AKAP9*, кроме того, может выступать в роли модификатора клинического течения *СУИQT 1*-го типа [34]. Для пациентов с сочетанным наличием мутаций в генах *KCNQ1* и *AKAP9* характерны более выраженные клинические проявления в виде более значимого удлинения интервала QT и увеличения частоты возникновения аритмических событий. Интересно, что в данном случае мутации в гене *AKAP9* были локализованы в интронах [34].

ФОРМЫ *СУИQT*, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ НАРУШЕНИЕМ РАБОТЫ НАТРИЕВЫХ КАНАЛОВ

Изменение работы натриевых каналов приводит к развитию *СУИQT* типов 3, 9, 10 и 12 (табл. 1), причем типы 3 и 10 вызываются патогенными или вероятно патогенными вариантами в генах, кодирующих субъединицы натриевого потенциал-зависимого канала.

СУИQT3 обусловлен патогенными вариантами в гене *SCN5A* и наследуется по аутосомно-доминантному типу. Ген локализован в коротком плече хромосомы 3 и состоит из 28 экзонов, охватывающих примерно 80 тпн, экспрессируется преимущественно в кардиомиоцитах [35]. *SCN5A* кодирует альфа-субъединицу натриевого потенциал-зависимого канала (рис. 1). В миокарде этот белок отвечает за начальный подъем потенциала действия на электрокардиограмме. P. Bennett с соавт. описали молекулярный механизм *СУИQT3*: в результате дефекта каналов происходит их колебание между функциональным и неактивным режимами

стробирания, в результате чего во время деполаризации мембран формируется устойчивый входящий натриевый ток, вызывающий удлинение фазы ПД кардиомиоцитов (более 50 мс) и удлинение интервала QT [36]. N. Makita с соавт. предположили, что клинические проявления СУИQT3, обусловленные дефектом *SCN5A*, зависят от типа наследования и воздействия модификаторов. Согласно наблюдениям авторов, одного мутантного аллеля *SCN5A* может быть недостаточно для возникновения тяжелого клинического фенотипа. Установлено, что в результате совместного наследования варианта D1275N в гене *SCN5A* и замены в промоторе белка Cx40 (коннексин 40), мутации в котором приводят к удлинению интервала PQ, наблюдаются более выраженные клинические проявления [37]. Кроме того, были описаны варианты нуклеотидной последовательности в гене *SCN5A* с противоположным эффектом — миссенс-мутация W1421X связана с ауто-сомно-доминантным наследованием аритмий и ВСС, в то же время вариант R1193Q вызывал усиление функции натриевых каналов и компенсировал негативные эффекты замены W1421X [38]. На ЭКГ СУИQT3 может проявляться в виде удлиненного изоэлектрического интервала, предшествующего относительно нормальной морфологии зубца. Приступы аритмии у пациентов с СУИQT 3-го типа происходят без явных триггеров, на фоне брадикардии, как в покое, так и во сне.

К развитию *СУИQT10* приводят патогенные варианты в гене *SCN4B*. *SCN4B* кодирует бета-субъединицу натриевого потенциал-зависимого канала, представляющую собой трансмембранный белок, образующий дисульфидные связи с *SCN2A* и участвующий таким образом в изменении кинетики натриевых каналов (рис. 1) [39]. Ген *SCN4B* локализован в длинном плече 11-й хромосомы и содержит пять экзонов протяженностью в 19.5 тпн [39]. В гене описаны патогенные миссенс-мутации, вызывающие 8-кратное увеличение тока натрия. В результате происходят удлинение интервала QT и фибрилляция предсердий [40]. Тип наследования — ауто-сомно-доминантный.

СУИQT12 обусловлен патогенными заменами в гене *SNTA1*, наследуется по ауто-сомно-доминантному типу. Ген состоит из 24 тпн, содержит восемь экзонов и кодирует периферический мембранный белок синтрофин альфа 1 — наиболее распространенную изоформу синтрофина, локализирующуюся в тканях сердца и скелетных мышцах, в меньшей степени в других тканях (рис. 1) [41, 42]. N-концевой домен этого белка взаимодействует с C-концом порообразующей альфа-субъединицы натриевого канала *SCN5A*. K. Ueda с соавт. идентифицирована миссенс-мутация в гене *SNTA1* (A390V — замена аланина на валин в высококонсервативном домене белка, приводя-

щая к усилению позднего натриевого тока). Вариант A390V вызывает нарушение взаимодействия белка *SNTA1* с белками *SCN5A*, *PMCA4b* и эндотелиальной синтазой оксида азота, в результате чего происходит усиление позднего натриевого тока, что является характерной для СУИQT биофизической дисфункцией. У описанного авторами пациента корригированный интервал QT составлял 529 мс, наблюдались обмороки [43]. G. Wu с соавт. у трех неродственных пациентов с диагнозом СУИQT описана замена A257G в гене *SNTA1*, в результате которой натриевые каналы также демонстрировали патологическое усиление функции [44]. Интересно, что данная замена в сочетании с вариантом P74L была зарегистрирована у клинически здоровых индивидов; функциональные исследования показали, что P74L нивелирует патологические эффекты A257G [45].

СУИQT 9 связывают с патогенными вариантами в гене *CAV3*, наследование происходит по ауто-сомно-доминантному типу. Ген *CAV3* локализован в коротком плече 3-й хромосомы, содержит два экзона. *CAV3* кодирует белок кавеолин 3, который представляет собой каркасный белок и функционирует как компонент плазматических мембран кавеол — субкомпарментов плазматических мембран, представляющих собой инвагинации диаметром от 50 до 100 нм, находящиеся в большинстве типов клеток (рис. 1) [46]. Основная функция кавеол — эндоцитоз, который запускается при утрате клеткой контактов с соседними клетками или межклеточным матриксом и ингибировании серин/треониновых фосфатаз [47, 48]. Патогенные варианты, идентифицированные в *CAV3*, вызывают нарушение олигомеризации кавеолина-3 и образования кавеол на плазматической мембране мышечных клеток, что в большинстве случаев приводит к различным мышечным патологиям — миодистрофиям и миопатиям [49]. M. Vatta с соавт. в гене *CAV3* были описаны четыре гетерозиготные миссенс-мутации, приводящие к образованию дефектного кавеолина-3 и увеличению натриевого тока в 2–3 раза [50]. Кроме того, L. Cronk с соавт. описали связь мутаций кавеолина-3 с синдромом внезапной детской смерти, у носителей патогенных генетических вариантов было выявлено повышение интенсивности натриевых токов в 5 раз по сравнению с контрольной группой [51].

ФОРМЫ СУИQT, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ НАРУШЕНИЕМ РАБОТЫ КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ

Изменение работы кальциевых каналов приводит к патологическим фенотипам СУИQT8, 14, 15, 16 (табл. 1), вызываемых мутациями в генах кальмодулинов и субъединицах потенциал-зависимого кальциевого канала.

СУИQT8 вызывается патогенными вариантами в гене *CACNA1C*. Тип наследования данного типа синдрома – аутосомно-доминантный. Ген кодирует белок *CACNA1C* – альфа-1 субъединицу потенциал-зависимого кальциевого канала (рис. 1). Деполяризация мембраны запускает процесс активации чувствительных к напряжению кальциевых каналов и каскад ключевых клеточных реакций, таких как сокращение, секреция, возбуждение и передача электрических импульсов [52]. Токи L-типа, создаваемые потенциал-зависимыми кальциевыми каналами, блокируются производными 1,4-дигидропиридина (DHP), таким образом каналы, ответственные за эти токи, называются DHP-чувствительными. Эти каналы представляют собой комплекс из пяти субъединиц: альфа-1, альфа-2, бета, гамма и дельта, каждая из которых содержит, по крайней мере, шесть трансмембранных доменов (S1–S6), которые соединены линкерами переменной длины [53]. Белок *CACNA1C* в миокарде состоит из 2180 аминокислот и имеет расчетную молекулярную массу 243.6 кДа. [54]. Ген *CACNA1C* расположен в коротком плече 12-й хромосомы, его длина примерно 150 тпн и содержит 44 инвариантных и шесть альтернативных экзонов. Существует предположение, что кальциевые каналы человека L-типа регулируются посредством генерации множества вариантов сплайсинга мРНК (некоторые из них тканеспецифичны), а также посредством экспрессии различных изоформ генов [55]. Патогенные варианты в гене *CACNA1C*, помимо *СУИQT*, приводят к синдрому Тимоти и синдрому Бругада [12, 56]. *СУИQT8* вызывается миссенс-мутациями в гетерозиготной форме, которые приводят к увеличению экспрессии рецепторов кальциевых каналов L-типа на поверхности клетки и усилению входящего кальциевого тока, что в итоге может увеличивать продолжительность ПД миокарда и способствовать возникновению ранней деполяризации. В результате формируется фенотип *СУИQT* со склонностью к потенциально летальным аритмиям [57].

СУИQT типов 14, 15, 16 связаны с патогенными вариантами в генах кальмодулинов – *CALM1*, *CALM2* и *CALM3*. Ген *CALM1* картирован в длинном плече 14-й хромосомы, *CALM2* локализован в коротком плече хромосомы 2, *CALM3* – в длинном плече хромосомы 19 [58]. Все три варианта синдрома, ассоциированные с генами кальмодулинов, наследуются по аутосомно-доминантному типу. Все три гена имеют уникальные нуклеотидные последовательности, но кодируют идентичные 149-аминокислотные белки кальмодулина с четырьмя петлями связывания кальция [59]. Кальмодулин осуществляет регуляцию множества кальций-зависимых процессов в организме, в частности работу ионных каналов CaV1.2 (ген *CACNA1C*) и NaV1.5 (*SCN5A*), локализованных в сердце (рис. 1) [59].

Регуляция осуществляется посредством взаимодействия с кальмодулин-зависимой протеинкиназой I (САМК1), степень активности которой напрямую зависит от строения консервативных доменов кальмодулина (замены в N-концевых участках могут снизить активность САМК1 на 80%) [60]. Также идентифицирован консервативный сайт связывания кальмодулина, играющий ключевую роль в регуляции синаптической активности кальциевых каналов, в зависимости от остаточной концентрации ионов кальция [61]. L. Crotti с соавт. было описано две миссенс-мутации в гене *CALM1* – D130G и F142L, вызывающие синдром удлиненного интервала QT. Оба варианта возникли *de novo*, клинически проявлялись удлинением интервала QT и желудочковыми аритмиями [62]. Позднее авторы проанализировали анамнестические данные 74 носителей патогенных и вероятно патогенных вариантов в генах *CALM1*, *CALM2* или *CALM3*. У 64 (86.5%) пациентов присутствовали патологические симптомы, а 10-летняя кумулятивная смертность составила 27%. Наиболее частыми диагнозами были синдром удлиненного интервала QT (49%) и катехоламинергическая полиморфная желудочковая тахикардия (28%); другие диагнозы включали идиопатическую фибрилляцию желудочков (10%), внезапную необъяснимую смерть (5%) и перекрывающийся фенотип (4%). Большинство патогенных вариантов (80%) затрагивали аминокислотные остатки в Са-связывающих петлях. Авторы отметили, что варианты кальмодулина, ведущие к симптоматике *СУИQT*, демонстрируют значительное снижение активности кальций-зависимого канала L-типа, что приводит к задержке реполяризации [62]. Также была обнаружена миссенс-мутация (F90L) в *CALM1*, приводящая к удлинению интервала QT после физических нагрузок и фибрилляции желудочков [63]. Патогенные варианты в гене *CALM2* были описаны N. Makita с соавт.: у пяти неродственных пациентов с синдромом удлиненного интервала QT идентифицировали пять миссенс-мутаций, возникших *de novo*. Функциональный анализ обнаруженных вариантов продемонстрировал значительное снижение аффинности связывания кальция с кальмодулином [37].

СУИQT4 характеризуется нарушением функционирования трех типов каналов – кальциевых, натриевых и калиевых (табл. 1); вызывается патогенными/вероятно патогенными вариантами нуклеотидной последовательности в гене *ANK2*. *СУИQT4* наследуется по аутосомно-доминантному типу. Ген локализован в длинном плече 4-й хромосомы, содержит 46 экзонов [64]. *ANK2* кодирует белок анкирин-В, функция которого заключается в связывании интегральных мембранных белков со спектрин-актиновым цитоскелетом (рис. 1). Семейство анкиринов играет важную роль в процессах клеточной пролиферации, подвижности и

формировании специализированных мембранных доменов. Большинство анкиринов состоит из трех структурных доменов: аминоконцевого, содержащего несколько анкириновых повторов; центральной области с высококонсервативным доменом связывания спектрина и регуляторного домена на карбокси-конце, который наименее консервативен и подвержен изменениям. В кардиомиоцитах анкирин-В играет роль стабилизатора натриевых каналов. Р. Mohler с соавт. впервые описали связь гена *ANK2* с СУИQT 4-го типа и молекулярный механизм формирования патологии: мутации анкирина-В приводят к нарушению клеточной организации натриевого насоса, натрий/кальциевого ионообменного канала и инозитол-1,4,5-трифосфатных рецепторов. Это снижает общий уровень белка, а также приводит к изменению передачи ионов кальция в кардиомиоцитах, что вызывает экстрасистолию и аритмию. Помимо молекулярного механизма была описана клиническая картина семьи, в которой СУИQT4, обусловленный носителем патогенного варианта E1425G в гене *ANK2*, был диагностирован у 25 человек (11 мужчин и 14 женщин). У пациентов отмечалась синусовая брадикардия, узловой выскальзывающий ритм, эпизоды фибрилляции предсердий, причем нарушения ритма у четырех индивидов были диагностированы уже во внутриутробном периоде [65]. Позднее этим же коллективом авторов были описаны патогенные генетические варианты *ANK2* у неродственных пациентов. Было установлено, что для пациентов с мутациями анкирина-В характерны различные виды нарушений ритма сердца, включая брадикардию, синусовую аритмию, идиопатическую фибрилляцию желудочков, катехоламинергическую полиморфную желудочковую тахикардию и соответственно риск внезапной смерти. Однако удлиненный интервал QT не был постоянным признаком, указывая на то, что дисфункция анкирина-В отличается от классических синдромов удлиненного QT. Также исследователи предположили, что различные степени потери функции анкирина-В являются модуляторами возникновения жизнеугрожающих аритмических событий [66].

Помимо рассмотренных выше 16 типов СУИQT существуют сочетанные формы. Интересное исследование было проведено Р. Westenskow с соавт. [67]. Они проанализировали гены *KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *KCNE1* и *KCNE2* у 252 пробандов с СУИQT и идентифицировали патогенные либо вероятно патогенные варианты у 20 человек. При этом гомозиготное носительство было зарегистрировано у одного человека, 18 же индивидов являлись либо носителями двух патогенных вариантов в одном гене (моногенные составные гетерозиготы), либо компаунд-гетерозиготами [67]. Было установлено, что у пациентов с двумя патогенными вариантами продолжитель-

ность интервала QTc была выше и в 3.5 раза повышалась вероятность остановки сердца (у всех 20 пробандов в группе с двумя генетическими вариантами были зарегистрированы аритмические события). Авторы пришли к выводу, что двуаллельные моно- или дигенные мутации вызывают тяжелый фенотип и нередко встречаются при синдроме удлиненного интервала QT. Подобные исследования демонстрируют важность проведения молекулярной диагностики всех генов, мутации в которых приводят к СУИQT, даже после выявления у пациента одного патогенного или вероятно патогенного варианта нуклеотидной последовательности.

Представленная выше клинико-генетическая характеристика структуры синдрома удлиненного интервала QT является классической. Мутации, которые были определены как “причинные” для развития патологии, в большинстве своем были открыты в 1990–2000-е гг. [19–21]. Вместе с тем пересмотр клинической значимости описанных ранее нуклеотидных замен привел к нескольким неожиданным результатам: в результате работы международного многоцентрового исследования LQTS ClinGenWorking более чем для половины генов СУИQT доказательства их “причинности” были признаны спорными или недостаточными [68]. Подтверждена клиническая значимость генов *KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A* (приводящих к развитию СУИQT 1-го, 2-го и 3-го типов соответственно; типичный СУИQT (табл. 1)), *CALM1*, *CALM2*, *CALM3* (СУИQT типов 14, 15 и 16; СУИQT с атипичными признаками). Для гена *SACNAIC* (СУИQT8) доказательства сочтены умеренными [68]. К генам с ограниченными доказательствами их этиологической роли были отнесены *KCNE1*, *KCNJ2* (5-й и 7-й типы; доказаны четкие причинно-следственные связи с патологией) и *CAV3* (9-й тип).

Этиологическая роль остальных генов была признана спорной [68]. Парадоксально, но недостаточными были признаны именно генетические доказательства. Так, гены *AKAP9*, *KCNE2*, *SCN4B*, *SNTA1* были идентифицированы как “причинные” для СУИQT при реализации кандидатного подхода (не на полногеномном анализе, который стал применяться значительно позже), поэтому не подтверждены достаточными статистическими данными. Заключение об этиологической роли генов *ANK2* и *KCNJ5* было сделано на основании анализа сцепления в больших семьях, без учета популяционной распространенности выявленных нуклеотидных замен и возможной роли расположенных вблизи генов [68]. Неизвестно, удастся ли получить дополнительные доказательства этиологической роли данных генов в будущем, однако обращает на себя внимание следующее: СУИQT в целом является редким заболеванием, причем на долю первых трех форм

приходится до 80% всех случаев. Именно для геннов, являющихся “причинными” для первых трех форм, в исследовании LQTS ClinGenWorking доказательств их этиологической значимости признаны наиболее убедительными. Не стоит исключать вероятность того, что именно ввиду малочисленности семей с патогенными вариантами в генах со спорной клинической значимостью для них не было получено достаточно убедительных доказательств.

ТАКТИКА ЛЕЧЕНИЯ

Установлено, что эффективность лечения больных зависит от конкретного молекулярно-генетического варианта синдрома. Основные методы лечения СУИQT – терапия бета-адреноблокаторами, левосторонняя симпатэктомия, имплантация кардиовертера-дефибриллятора, геноспецифическая терапия. Основная цель терапии – предотвращение рецидивов тахикардии torsade de pointes и профилактика ВСС. Первой линией терапии СУИQT является терапия бета-адреноблокаторами. Носителям генетической мутации без клинических проявлений и с нормальным интервалом QT также рекомендован прием бета-адреноблокаторов в профилактических целях. Это подчеркивает необходимость молекулярно-генетической диагностики СУИQT у родственников пациентов с целью обнаружения бессимптомного носительства и предотвращения ВСС [69]. Эффективность бета-адреноблокаторов установлена при различных молекулярно-генетических вариантах и предотвращает развитие жизнеугрожающей аритмии у 81% пациентов с СУИQT 1-го типа, у 59% – с СУИQT 2-го типа и 50% – с СУИQT 3-го типа [2]. В течение многих лет существовало ошибочное представление о том, что блокаторы β -адренорецепторов бесполезны и потенциально опасны для пациентов с СУИQT 3-го типа. В настоящее время эффективность препаратов доказана и для этой категории пациентов [4]. Понимание механизма действия мутаций в гене *SCN5A* привело к предложению использовать блокатор натриевых каналов мексилетин для укорочения интервала QT у пациентов с СУИQT3. Этот первый пример генно-специфической терапии оказался успешным и был подтвержден недавними исследованиями. Если при фармакологической пробе с мексилетином QTc укорачивается более чем на 40 мс у пациентов с исходным QTc > 500 мс, этот препарат следует добавлять к терапии СУИQT 3-го типа [70]. Кроме того, мексилетин может быть эффективным и у части пациентов с СУИQT 2-го типа [71]. В дополнение к этим препаратам возможно назначение пациентам с СУИQT 2-го типа калий-сберегающих диуретиков с целью повышения содержания калия в сыворотке крови и коррекции продолжительности интервала QT [72]. В

лечении СУИQT 3-го типа успешно применяется флекаинид. У пациентов с мутацией D1790G в гене *SCN5A* на фоне терапии отмечалось уменьшение продолжительности интервала QT и подавление альтернации зубца T [72].

Признанными немедикаментозными методами лечения СУИQT являются симпатическая денервация левых отделов сердца и имплантация кардиовертера-дефибриллятора. Левосторонняя симпатэктомия (ЛСЭ) увеличивает порог желудочковой фибрилляции и продолжительность рефрактерного периода миокарда желудочков, уменьшает продолжительность интервала QT и снижает количество синкопальных эпизодов. Наиболее эффективна ЛСЭ при СУИQT 1-го типа. ЛСЭ рекомендуется пациентам, у которых рецидивы желудочковой тахикардии сохраняются, несмотря на прием максимальных доз бета-блокаторов или в связи с их плохой переносимостью [69].

ИКД-терапия в сочетании с бета-блокаторами показана больным, пережившим остановку сердца (класс I), а также тем, у кого сохраняются синкопальные состояния, связанные с желудочковой тахикардией на фоне приема бета-блокаторов (класс IIa). Имплантация кардиовертера-дефибриллятора в сочетании с приемом бета-адреноблокаторов рекомендована также пациентам из группы высокого риска, в которую входят пациенты с QTc > 500 мс (класс IIb), и носителями двух и более мутаций (в том числе пациентам с синдромом Джервелла–Ланге–Нильсена и Тимоти) [73].

Все больные с диагнозом СУИQT должны находиться под наблюдением кардиолога с оценкой динамики риска ВСС не реже, чем один раз в год.

Важной составляющей терапии является профилактика приступов – исключение триггеров и препаратов, удлиняющих интервал QT. Так, пациенты с типом 1 СУИQT подвергаются повышенному риску возникновения аритмического события всякий раз, когда увеличивается симпатическая активность, например во время эмоционального или физического стресса, особенно плавания. У пациентов со 2-ым типом жизнеугрожающая аритмия может возникнуть при воздействии внезапных шумов, особенно если они находятся в состоянии покоя, или при внезапном пробуждении [74]. Пациенты с СУИQT 3-го типа в первую очередь подвержены риску в состоянии покоя или во сне [73].

В заключение хотелось бы отметить, что максимальная эффективность терапии может быть достигнута только при наличии полной диагностической картины – результатов ЭКГ, данных молекулярно-генетического тестирования, анамнеза (включая семейный). Молекулярно-генетическая диагностика особенно важна как в подборе оптимальной терапии, так и с точки зрения

профилактики, учитывая тот факт, что триггеры приступов желудочковой тахикардии различаются в зависимости от типа синдрома. Очевидно также, что необходимо расширение диагностических возможностей и более доскональное изучение менее распространенных типов СУИQT для целенаправленного подбора терапии и выявления специфических триггеров.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Федеральная научно-техническая программа развития генетических технологий на 2019–2027 гг., соглашение № 075-15-2021-1061, РФ 193021X0029).

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шляхто Е.В., Арутюнов Г.П., Беленков Ю.Н. и др. Национальные рекомендации по определению риска и профилактике внезапной сердечной смерти (2-е изд.). М., 2018. 247 р.
2. Ильдарова Р.А., Школьникова М.А., Ильдарова Р.А. и др. Современная тактика ведения пациентов молодого возраста с синдромом удлиненного интервала QT: от ранней диагностики к имплантации кардиовертера дефибриллятора и мониторингу маркера риска внезапной смерти // Сиб. журн. клинич. и эксперим. медицины. 2015. P. 28–35.
3. Wallace E., Howard L., Liu M. et al. Long QT syndrome: Genetics and future perspective // *Pediatr. Cardiol.* 2019. V. 40. № 7. P. 1419–1430. <https://doi.org/10.1007/S00246-019-02151-X>
4. Schwartz P.J., Ackerman M.J., Antzelevitch C. et al. Inherited cardiac arrhythmias // *Nat. Rev. Dis. Prim.* NIH Public Access. 2020. V. 6. № 1. P. 58. <https://doi.org/10.1038/S41572-020-0188-7>
5. Tfelt-Hansen J., Winkel B.G., Grunnet M. et al. Cardiac channelopathies and sudden infant death syndrome // *Cardiology.* 2011. V. 119. № 1. P. 21–33. <https://doi.org/10.1159/000329047>
6. Garcia-Elias A., Benito B. Ion channel disorders and sudden cardiac death // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 19. № 3. <https://doi.org/10.3390/IJMS19030692>
7. Zareba W., Moss A.J., Schwartz P.J. et al. Influence of the genotype on the clinical course of the long-QT syndrome. International Long-QT Syndrome Registry Research Group // *N. Engl. J. Med.* 1998. V. 339. № 14. P. 960–965. <https://doi.org/10.1056/NEJM199810013391404>
8. Neyroud N., Richard P., Vignier N. et al. Genomic organization of the KCNQ1 K⁺ channel gene and identification of C-terminal mutations in the long-QT syndrome // *Circ. Res.* 1999. V. 84. № 3. P. 290–297. <https://doi.org/10.1161/01.RES.84.3.290>
9. Dixit G., Dabney-Smith C., Lorigan G.A. et al. The membrane protein KCNQ1 potassium ion channel: Functional diversity and current structural insights HHS public access author manuscript // *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* 2020. V. 1862. № 5. P. 183148. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2019.183148>
10. Mikuni I., Torres C.G., Bienengraeber M.W. et al. Partial restoration of the long QT syndrome associated KCNQ1 A341V mutant by the KCNE1 β -subunit // *Biochim. Biophys. Acta. NIH Public Access.* 2011. V. 1810. № 12. P. 1285. <https://doi.org/10.1016/J.BBAGEN.2011.07.018>
11. Brink P.A., Crotti L., Corfield V. et al. Phenotypic variability and unusual clinical severity of congenital long-QT syndrome in a founder population // *Circulation.* 2005. V. 112. № 17. P. 2602–2610. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.572453>
12. Splawski I., Shen J., Timothy K.W. et al. Genomic structure of three long QT syndrome genes: KVLQT1, HERG, and KCNE1 // *Genomics.* 1998. V. 51. № 1. P. 86–97. <https://doi.org/10.1006/GENO.1998.5361>
13. Trudeau M.C., Warmke J.W., Ganetzky B. et al. HERG, a human inward rectifier in the voltage-gated potassium channel family // *Science.* 1995. V. 269. № 5220. P. 92–95. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.7604285>
14. Smith P.L., Baukrowitz T., Yellen G. The inward rectification mechanism of the HERG cardiac potassium channel // *Nature.* 1996. V. 379. № 6568. P. 833–836. <https://doi.org/10.1038/379833A0>
15. Sanguinetti M.C., Jiang C., Curran M.E. et al. A mechanistic link between an inherited and an acquired cardiac arrhythmia: HERG encodes the IKr potassium channel // *Cell.* 1995. V. 81. № 2. P. 299–307. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(95\)90340-2](https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90340-2)
16. Bjerregaard P. Diagnosis and management of short QT syndrome // *Hear. Rhythm. Elsevier.* 2018. V. 15. № 8. P. 1261–1267. <https://doi.org/10.1016/J.HRTHM.2018.02.034>
17. McDonald T.V., Yu Z., Ming Z. et al. A minK-HERG complex regulates the cardiac potassium current I(Kr) // *Nature.* 1997. V. 388. № 6639. P. 289–292. <https://doi.org/10.1038/40882>
18. Bianchi L., Shen Z., Dennis A.T. et al. Cellular dysfunction of LQT5-minK mutants: Abnormalities of IKs, IKr and trafficking in long QT syndrome // *Hum. Mol. Genet.* 1999. V. 8. № 8. P. 1499–1507. <https://doi.org/10.1093/HMG/8.8.1499>
19. Paulussen A.D.C., Gilissen R.A.H.J., Armstrong M. et al. Genetic variations of KCNQ1, KCNH2, SCN5A, KCNE1, and KCNE2 in drug-induced long QT syndrome patients // *J. Mol. Med. (Berl.).* 2004. V. 82. № 3. P. 182–188. <https://doi.org/10.1007/S00109-003-0522-Z>
20. Millat G., Chevalier B., Restier-Miron L. et al. Spectrum of pathogenic mutations and associated polymorphisms in a cohort of 44 unrelated patients with long QT syndrome // *Clin. Genet.* 2006. V. 70. № 3. P. 214–227. <https://doi.org/10.1111/J.1399-0004.2006.00671.X>

21. *Abbott G.W., Sesti F., Splawski I. et al.* MiRP1 forms IKr potassium channels with HERG and is associated with cardiac arrhythmia // *Cell*. 1999. V. 97. № 2. P. 175–187.
[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80728-X](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80728-X)
22. *Lopes C.M.B., Zhang H., Rohacs T. et al.* Alterations in conserved Kir channel-PIP2 interactions underlie channelopathies // *Neuron*. 2002. V. 34. № 6. P. 933–944.
[https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(02\)00725-0](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(02)00725-0)
23. *Tristani-Firouzi M., Jensen J.L., Donaldson M.R. et al.* Functional and clinical characterization of KCNJ2 mutations associated with LQT7 (Andersen syndrome) // *J. Clin. Invest.* 2002. V. 110. № 3. P. 381–388.
<https://doi.org/10.1172/JCI15183>
24. *Derst C., Karschin C., Wischmeyer E. et al.* Genetic and functional linkage of Kir5.1 and Kir2.1 channel subunits // *FEBS Lett.* 2001. V. 491. № 3. P. 305–311.
[https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(01\)02202-5](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(01)02202-5)
25. *Pérez-Riera A.R., Barbosa-Barros R., Samesina N. et al.* Andersen–Tawil syndrome: A comprehensive review // *Cardiol. Rev.* 2021. V. 29. № 4. P. 165–177.
<https://doi.org/10.1097/CRD.0000000000000326>
26. *Wickman K., Seldin M.F., Gendler S.J. et al.* Partial structure, chromosome localization, and expression of the mouse *Girk4* gene // *Genomics*. 1997. V. 40. № 3. P. 395–401.
<https://doi.org/10.1006/GENO.1997.4599>
27. *Yang Y., Yang Y., Liang B. et al.* Identification of a Kir3.4 mutation in congenital long QT syndrome // *Am. J. Hum. Genet.* 2010. V. 86. № 6. P. 872–880.
<https://doi.org/10.1016/J.AJHG.2010.04.017>
28. *Kokunai Y., Nakata T., Furuta M. et al.* A Kir3.4 mutation causes Andersen–Tawil syndrome by an inhibitory effect on Kir2.1 // *Neurology*. 2014. V. 82. № 12. P. 1058–1064.
<https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000000239>
29. *He C., Zhang H., Mirshahi T. et al.* Identification of a potassium channel site that interacts with G protein betagamma subunits to mediate agonist-induced signaling // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. № 18. P. 12517–12524.
<https://doi.org/10.1074/JBC.274.18.12517>
30. *Matsuda S., Ohnuki Y., Okami M. et al.* Jervell and Lange-Nielsen syndrome with novel KCNQ1 and additional gene mutations // *Hum. Genome Var. Nature Publ. Group*. 2020. V. 7. № 1.
<https://doi.org/10.1038/S41439-020-00121-X>
31. *Witczak O., Skålhegg B.S., Keryer G. et al.* Cloning and characterization of a cDNA encoding an A-kinase anchoring protein located in the centrosome, AKAP450 // *EMBO J.* 1999. V. 18. № 7. P. 1858.
<https://doi.org/10.1093/EMBOJ/18.7.1858>
32. *Kurokawa J., Motoike H.K., Rao J. et al.* Regulatory actions of the A-kinase anchoring protein Yotiao on a heart potassium channel downstream of PKA phosphorylation // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2004. V. 101. № 46. P. 16374.
<https://doi.org/10.1073/PNAS.0405583101>
33. *Chen L., Marquardt M.L., Tester D.J. et al.* Mutation of an A-kinase-anchoring protein causes long-QT syndrome // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2007. V. 104. № 52. P. 20990–20995.
<https://doi.org/10.1073/PNAS.0710527105>
34. *De Villiers C.P., Van Der Merwe L., Crotti L. et al.* AKAP9 is a genetic modifier of congenital long-QT syndrome type 1 // *Circ. Cardiovasc. Genet.* 2014. V. 7. № 5. P. 599–606.
<https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.113.000580>
35. *Wang Q., Li Z., Shen J. et al.* Genomic organization of the human SCN5A gene encoding the cardiac sodium channel // *Genomics*. 1996. V. 34. № 1. P. 9–16.
<https://doi.org/10.1006/GENO.1996.0236>
36. *Bennett P.B., Yazawa K., Makita N. et al.* Molecular mechanism for an inherited cardiac arrhythmia // *Nature*. 1995. V. 376. № 6542. P. 683–685.
<https://doi.org/10.1038/376683A0>
37. *Makita N., Yagihara N., Crotti L. et al.* Novel calmodulin mutations associated with congenital arrhythmia susceptibility // *Circ. Cardiovasc. Genet.* 2014. V. 7. № 4. P. 466–474.
<https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.113.000459>
38. *Niu D.M., Hwang B., Hwang H.W. et al.* A common SCN5A polymorphism attenuates a severe cardiac phenotype caused by a nonsense SCN5A mutation in a Chinese family with an inherited cardiac conduction defect // *J. Med. Genet.* 2006. V. 43. № 10. P. 817–821.
<https://doi.org/10.1136/JMG.2006.042192>
39. *Yu F.H., Westenbroek R.E., Silos-Santiago I. et al.* Sodium channel beta4, a new disulfide-linked auxiliary subunit with similarity to beta2 // *J. Neurosci.* 2003. V. 23. № 20. P. 7577–7585.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-20-07577.2003>
40. *Li R.G., Wang Q., Xu Y.J. et al.* Mutations of the SCN4B-encoded sodium channel β 4 subunit in familial atrial fibrillation // *Int. J. Mol. Med.* 2013. V. 32. № 1. P. 144–150.
<https://doi.org/10.3892/IJMM.2013.1355>
41. *Ahnt A.H., Freener C.A., Gussoni E. et al.* The three human syntrophin genes are expressed in diverse tissues, have distinct chromosomal locations, and each bind to dystrophin and its relatives // *J. Biol. Chem.* 1996. V. 271. № 5. P. 2724–2730.
<https://doi.org/10.1074/JBC.271.5.2724>
42. *Adams M.E., Dwyer T.M., Dowler L.L. et al.* Mouse alpha 1- and beta 2-syntrophin gene structure, chromosome localization, and homology with a discs large domain // *J. Biol. Chem.* 1995. V. 270. № 43. P. 25859–25865.
<https://doi.org/10.1074/JBC.270.43.25859>
43. *Ueda K., Valdivia C., Medeiros-Domingo A. et al.* Syntrophin mutation associated with long QT syndrome through activation of the nNOS-SCN5A macromolecular complex // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2008. V. 105. № 27. P. 9355–9360.
<https://doi.org/10.1073/PNAS.0801294105>
44. *Wu G., Ai T., Kim J.J. et al.* Alpha-1-syntrophin mutation and the long-QT syndrome: A disease of sodium channel disruption // *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* 2008. V. 1. № 3. P. 193–201.
<https://doi.org/10.1161/CIRCEP.108.769224>
45. *Cheng J., Van Norstrand D.W., Medeiros-Domingo A. et al.* LQTS-associated mutation A257G in α 1-syntrophin interacts with the intragenic variant P74L to modify its biophysical phenotype // *Cardiogenetics*. 2011. V. 1. № 1. P. e13.
<https://doi.org/10.4081/CARDIOGENETICS.2011.E13>

46. *Minetti C., Sotgia F., Bruno C. et al.* Mutations in the caveolin-3 gene cause autosomal dominant limb-girdle muscular dystrophy // *Nat. Genet.* 1998. V. 18. № 4. P. 365–368.
<https://doi.org/10.1038/NG0498-365>
47. *Parton R.G.* Caveolae and caveolins // *Curr. Opin. Cell Biol.* 1996. V. 8. № 4. P. 542–548.
[https://doi.org/10.1016/S0955-0674\(96\)80033-0](https://doi.org/10.1016/S0955-0674(96)80033-0)
48. *Echarri A., Del Pozo M.A.* Caveolae – mechanosensitive membrane invaginations linked to actin filaments // *J. Cell Sci.* 2015. V. 128. № 15. P. 2747–2758.
<https://doi.org/10.1242/JCS.153940>
49. *Gazzerro E., Sotgia F., Bruno C. et al.* Caveolinopathies: From the biology of caveolin-3 to human diseases // *Eur. J. Hum. Genet.* 2010. V. 18. № 2. P. 137.
<https://doi.org/10.1038/EJHG.2009.103>
50. *Vatta M., Ackerman M.J., Ye B. et al.* Mutant caveolin-3 induces persistent late sodium current and is associated with long-QT syndrome // *Circulation.* 2006. V. 114. № 20. P. 2104–2112.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.635268>
51. *Cronk L.B., Ye B., Kaku T. et al.* Novel mechanism for sudden infant death syndrome: persistent late sodium current secondary to mutations in caveolin-3 // *Hear. Rhythm.* 2007. V. 4. № 2. P. 161–166.
<https://doi.org/10.1016/J.HRTHM.2006.11.030>
52. *Tsien R.W., Ellinor P.T., Horne W.A.* Molecular diversity of voltage-dependent Ca²⁺ channels // *Trends Pharmacol. Sci.* 1991. V. 12. № 9. P. 349–354.
[https://doi.org/10.1016/0165-6147\(91\)90595-J](https://doi.org/10.1016/0165-6147(91)90595-J)
53. *Perez-Reyes E., Wei X., Castellano A. et al.* Molecular diversity of L-type calcium channels. Evidence for alternative splicing of the transcripts of three non-allelic genes // *J. Biol. Chem. Elsevier.* 1990. V. 265. № 33. P. 20430–20436.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)30522-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)30522-7)
54. *Schultz D., Mikala G., Yatani A. et al.* Cloning, chromosomal localization, and functional expression of the alpha 1 subunit of the L-type voltage-dependent calcium channel from normal human heart // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1993. V. 90. № 13. P. 6228–6232.
<https://doi.org/10.1073/PNAS.90.13.6228>
55. *Soldatov N.M.* Genomic structure of human L-type Ca²⁺ channel // *Genomics.* 1994. V. 22. № 1. P. 77–87.
<https://doi.org/10.1006/GENO.1994.1347>
56. *Antzelevitch C.* Genetic basis of Brugada syndrome // *Heart Rhythm. NIH Public Access.* 2007. V. 4. № 6. P. 756.
<https://doi.org/10.1016/J.HRTHM.2007.03.015>
57. *Boczek N.J., Best J.M., Tester D.J. et al.* Exome sequencing and systems biology converge to identify novel mutations in the L-type calcium channel, CACNA1C, linked to autosomal dominant long QT syndrome // *Circ. Cardiovasc. Genet.* 2013. V. 6. № 3. P. 279–289.
<https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.113.000138>
58. *Rhyner J.A., Ottiger M., Wicki R. et al.* Structure of the human CALM1 calmodulin gene and identification of two CALM1-related pseudogenes CALM1P1 and CALM1P2 // *Eur. J. Biochem.* 1994. V. 225. № 1. P. 71–82.
<https://doi.org/10.1111/J.1432-1033.1994.00071.X>
59. *Boczek N.J., Gomez-Hurtado N., Ye D. et al.* Spectrum and prevalence of CALM1-, CALM2-, and CALM3-encoded calmodulin variants in long QT syndrome and functional characterization of a novel long QT syndrome-associated calmodulin missense variant, E141G // *Circ. Cardiovasc. Genet.* 2016. V. 9. № 2. P. 136–146.
<https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.115.001323>
60. *Chin D., Winkler K.E., Means A.R.* Characterization of substrate phosphorylation and use of calmodulin mutants to address implications from the enzyme crystal structure of calmodulin-dependent protein kinase I // *J. Biol. Chem.* 1997. V. 272. № 50. P. 31235–31240.
<https://doi.org/10.1074/JBC.272.50.31235>
61. *Junge H.J., Rhee J.S., Jahn O. et al.* Calmodulin and Munc13 form a Ca²⁺ sensor/effector complex that controls short-term synaptic plasticity // *Cell.* 2004. V. 118. № 3. P. 389–401.
<https://doi.org/10.1016/J.CELL.2004.06.029>
62. *Crotti L., Spazzolini C., Tester D.J. et al.* Calmodulin mutations and life-threatening cardiac arrhythmias: Insights from the International Calmodulinopathy Registry // *Eur. Heart J.* 2019. V. 40. № 35. P. 2964–2975.
<https://doi.org/10.1093/EURHEARTJ/EHZ311>
63. *Marsman R.F., Barc J., Beekman L. et al.* A mutation in CALM1 encoding calmodulin in familial idiopathic ventricular fibrillation in childhood and adolescence // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2014. V. 63. № 3. P. 259–266.
<https://doi.org/10.1016/J.JACC.2013.07.091>
64. *Mohler P.J., Schott J.J., Gramolini A.O. et al.* Ankyrin-B mutation causes type 4 long-QT cardiac arrhythmia and sudden cardiac death // *Nature.* 2003. V. 421. № 6923. P. 634–639.
<https://doi.org/10.1038/NATURE01335>
65. *Mohler P.J., Splawski I., Napolitano C. et al.* A cardiac arrhythmia syndrome caused by loss of ankyrin-B function // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2004. V. 101. № 24. P. 9137–9142.
<https://doi.org/10.1073/PNAS.0402546101>
66. *Mohler P.J., Le Scouarnec S., Denjoy I. et al.* Defining the cellular phenotype of “ankyrin-B syndrome” variants: Human ANK2 variants associated with clinical phenotypes display a spectrum of activities in cardiomyocytes // *Circulation.* 2007. V. 115. № 4. P. 432–441.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.656512>
67. *Westenskow P., Splawski I., Timothy K.W. et al.* Compound mutations: A common cause of severe long-QT syndrome // *Circulation.* 2004. V. 109. № 15. P. 1834–1841.
<https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000125524.34234.13>
68. *Adler A., Novelli V., Amin A.S. et al.* An international, multicentered, evidence-based reappraisal of genes reported to cause congenital long QT syndrome // *Circulation.* 2020. V. 141. № 6. P. 418.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.119.043132>
69. *Лебедев Д.С., Михайлов Е.Н., Неминуций Н.М. и др.* Желудочковые нарушения ритма. Желудочковые тахикардии и внезапная сердечная смерть. Клинические рекомендации // *Рос. кардиол. журн.* 2020. Т. 26. № 7.
<https://doi.org/10.15829/1560-4071-2021-4600>

70. *Mazzanti A., Maragna R., Faragli A. et al.* Gene-specific therapy with mexiletine reduces arrhythmic events in patients with long QT syndrome type 3 // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2016. V. 67. № 9. P. 1053–1058. <https://doi.org/10.1016/J.JACC.2015.12.033>
71. *Bos J.M., Crotti L., Rohatgi R.K. et al.* Mexiletine shortens the QT interval in patients with potassium channel-mediated type 2 long QT syndrome // *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* 2019. V. 12. № 5. <https://doi.org/10.1161/CIRCEP.118.007280>
72. *Etheridge S.P., Compton S.J., Tristani-Firouzi M. et al.* A new oral therapy for long QT syndrome: Long-term oral potassium improves repolarization in patients with HERG mutations // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2003. V. 42. № 10. P. 1777–1782. <https://doi.org/10.1016/J.JACC.2003.07.006>
73. *Crotti L., Celano G., Dagradi F. et al.* Congenital long QT syndrome // *Orphanet J. Rare Dis.* 2008. V. 3. № 1. P. 1–16. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-3-18/FIGURES/6>
74. *Priori S.G., Wilde A.A., Horie M. et al.* HRS/EHRA/APHR expert consensus statement on the diagnosis and management of patients with inherited primary arrhythmia syndromes // *J. Arrhythmia.* 2014. V. 30. № 1. P. 1–28. <https://doi.org/10.1016/J.JOA.2013.07.002>

Clinical and Genetic Features of Congenital Long QT Syndrome

A. E. Postrigan^{a, *}, N. P. Babushkina^a, L. I. Svintsova^b, I. V. Plotnikova^b, and N. A. Skryabin^a

^a*Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences, Tomsk, 634050 Russia*

^b*Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences, Tomsk, 634012 Russia*

*e-mail: postrigan.anna@medgenetics.ru

Long QT syndrome is a rare ion channel disease of the heart. The main disease manifestations are prolongation QT interval on the ECG and ventricular arrhythmias, which can cause sudden cardiac death at a young age. Diagnosis and treatment of this syndrome is an urgent problem, since in order to prescribe effective therapy, it is necessary to establish the type of syndrome by molecular genetic diagnostics. This review discusses the clinical and genetic various types features of congenital long QT syndrome.

Keywords: long QT syndrome, hereditary arrhythmia, *KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, molecular genetic diagnostics.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ВЗАИМОСВЯЗЬ ЧУЛЫМСКИХ ТЮРКОВ С ХАКАСАМИ И КЕТАМИ ПО ДАННЫМ АУТОСОМНЫХ SNP И ГАПЛОГРУППАМ Y-ХРОМОСОМЫ

© 2022 г. Л. В. Валихова¹ *, В. Н. Харьков¹, А. А. Зарубин¹, Н. А. Колесников¹,
М. Г. Сваровская¹, И. Ю. Хитринская¹, О. В. Штыгашева², В. Г. Волков¹, В. А. Степанов¹

¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук, Томск, 634050 Россия

²Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова, Абакан, 655017 Россия

*e-mail: Larisa_Ermizova9@mail.ru

Поступила в редакцию 04.04.2022 г.

После доработки 16.05.2022 г.

Принята к публикации 18.05.2022 г.

Исследована структура генофонда чулымских тюрков в сравнении с другими сибирскими популяциями по полногеномной панели аутосомных однонуклеотидных полиморфных маркеров и маркерам Y-хромосомы. Результаты анализа частот аутосомных SNP различными методами, сходства по составу гаплогрупп Y-хромосомы и YSTR-гаплотипов свидетельствуют, что генофонд чулымцев формировался при расселении тюркских групп с территории Хакасии и их смешении с местным автохтонным населением. Две доминирующие гаплогруппы Y-хромосомы у чулымцев и кластеры гаплотипов демонстрируют эффект основателя. Возраст их формирования полностью согласуется с данными об этногенезе чулымцев. Анализ состава генетических компонент и IBD-блоков на аутосомах свидетельствуют об их генетической близости с кетами, хакасами и томскими татарами. Совокупность полученных данных подтверждает представления о формировании генофонда чулымцев в результате смешения пришлого и коренного населения бассейна Чулыма.

Ключевые слова: генофонд, популяция, генетическое разнообразие, генетические компоненты, Y-хромосома, чулымцы, хакасы, кеты.

DOI: 10.31857/S0016675822100113

Чулымские тюрки (чулымцы, или томские карагасы) — это один из малочисленных коренных народов Сибири, проживающий в Томской области и Красноярском крае в бассейне р. Чулым, по которой они и получили свое название, и ее притоков Яи и Кии. Общая численность чулымцев в России по переписи 2010 г. составила 355 человек (240 в Тегульдетском районе Томской области и 115 в Тюхтетском районе Красноярского края) [1].

По данным археологов культура енисейских кыргызов проникает в Причулымье в X в. Предки чулымских тюрков стали активно переселяться в район их нынешнего ареала начиная с XIV–XV вв. К появлению русских они занимали обширные территории бассейна Чулыма, от верхнего течения в районе северных предгорий Саян до устья при впадении в Обь. На момент завершения этнической консолидации чулымцев в их культуре прослеживалось влияние хакасов-кызыльцев, селькупов, томских татар и кетов. По классификации Н.А. Баскакова чулымский язык относится к хакасской подгруппе уйгуро-огузской группы во-

сточно-хуннской ветви тюркских языков. Родственные языки — хакасский и шорский [2].

По данным лингвистики язык тюрков Чулыма, проживающих по побережьям Кии и выше ее устья по системе Чулыма, связан с кызыльским наречием хакасского языка и свидетельствует о том, что заселение Чулыма тюрками или продвижение тюркского языка на Чулым происходило из бассейна р. Абакан [3]. По данным антропологии, чулымцев среднего Чулыма по степени выраженности монголоидных особенностей сближают с эвенками [4], население нижнего Чулыма менее монголоидно, и по сумме краниологических признаков профилирования лица и выступления носа не более монголоидно, чем ханты, манси, ненцы. Но относительно нарымских селькупов, телеутов, шорцев, хакасов чулымцы имеют более уплощенный лицевой скелет [5]. В целом хакасы и чулымцев относят к разным антропологическим типам, но хакасы-кызыльцы таксономически занимают промежуточное положение между чулымцами и хакасами, что подтверждает исто-

рически тесные связи с чулымцами. Наибольшим антропологическим сродством чулымцы связаны с селькупам низовья Чулыма и томскими татарами. Предки современных томских татар, жившие в XVI–XVII вв., с полным правом могут быть отнесены к чулымскому антропологическому типу [6–8].

К настоящему времени генофонд чулымских тюрок не изучался. В последние десятилетия чулымцы как отдельное этно-социокультурное образование лишаются своих отличительных черт и стремительно ассимилируются в другие сообщества, проживающие на близлежащих территориях. Численность чулымцев составляла в XVII в. от 830 до 1040 человек, в XVIII — около 1500 человек, в начале XIX в. — 4050 человек, в начале XX в. — 1161 человек, в 1996 г. — 742 человека, в 2002 г. — 656 человек, в 2010 г. — 355–370 человек [2, 9–12].

Различия в статистике связаны не с резким сокращением популяции, а с ассимиляцией пришедшим населением и причислением себя к русским. Предполагается, что к 2040 г. произойдет полная ассимиляция чулымцев.

Развитие новых технологий масштабного генотипирования и технологий биоинформационного анализа за последние несколько лет позволили перейти на более высокую ступень изучения генетической структуры популяций человека, проводить высокоразрешающие исследования и сравнительный анализ генетического разнообразия популяций человека.

Изучение генетического разнообразия населения Южной и Центральной Сибири в последние годы активно ведется нами и рядом других исследовательских групп [13–15], однако эти работы не включали выборки чулымских тюрок.

Цель настоящего исследования — комплексный анализ структуры генофонда чулымцев и реконструкция их происхождения в контексте генетического разнообразия коренного населения Южной и Западной Сибири. Для решения вопросов генетической близости чулымцев с другими коренными народами было выполнено генотипирование широкого геномного набора аутомомных маркеров с помощью высокоплотных биочипов, а также расширенного набора SNP- и STR-маркеров Y-хромосомы у различных этнических групп: чулымцев, хакасов, тувинцев, южных алтайцев, сибирских татар (тюркская языковая семья), кетов (енисейская языковая семья) и хантов (финно-угорская языковая семья). Это позволило достаточно точно охарактеризовать структуру генофонда исчезающей группы чулымских тюрок и их родство с окружающими этносами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материал исследования составили образцы ДНК мужчин и женщин из различных локальных популяций чулымцев ($N = 107$). Забор первичного биологического материала (венозной крови) у доноров производили с соблюдением процедуры письменного информированного согласия на проведение исследования. На каждого донора составлялась анкета с краткой родословной, указанием этнической принадлежности и мест рождения предков. Индивида относили к данной этнической группе на основании его собственной этнической идентификации, его родителей и места рождения.

Выборка чулымцев представляет две популяционные группы жителей Тегульдетского (п. Тегульдет, д. Новошумилово, д. Куяновская Гарь) ($N = 56$) и Тюхтетского (д. Пасечное, д. Чиндат) ($N = 51$) районов. Материал был собран в ходе экспедиций в 2018 г. и депонирован в биоресурсную коллекцию “Биобанк населения Северной Евразии”. Ранее это население относилось к Тугальской и Мелесской волостям. В выборку не включены современные ассимилированные потомки чулымцев, предки которых числились в других волостях. Это может влиять на определение возраста изучаемой популяционной группы.

Популяции коренного населения Сибири представлены: чулымцами ($N = 22$), хакасами (сагайцами Таштыпского р-на, $N = 29$ и качинцами Ширинского р-на, $N = 26$), южными алтайцами (с. Бешпельтир Чемальского р-на, $N = 24$ и с. Кулада Онгудайского р-на, $N = 25$), кетами (п. Келлог Туруханского р-на Красноярского края, $N = 15$), томскими татарами (п. Черная Речка, п. Эушта и п. Тахтамышево Томского р-на, $N = 20$), тувинцами (с. Тээли Бай-Тайгинского кожууна, $N = 28$), хантами (с. Казым Белоярского р-на, $N = 30$ и д. Русскинская Сургутского р-на, $N = 26$). Данные широкогеномного генотипирования были получены с использованием микрочипов Infinium Multi-Ethnic Global-8 (Illumina) для SNP генотипирования, включающего свыше 1.7 млн маркеров.

Для анализа Y-хромосомных гаплогрупп были использованы 29 образцов мужчин чулымцев. Выборка мужчин хакасов представляет три популяционные группы жителей территориально разобщенных районов: Аскизского (села Усть-Есь, Есино (улус Полтаков), Усть-Чуль и Кызлас, $N = 160$), Таштыпского (деревни Матур, Анчуль, Большая Сея и Бутрахты, $N = 81$) и Ширинского (села Малый Спирин и Топанов, $N = 51$). Выборка мужчин кетов представлена 25 образцами, южных алтайцев — 134 образцами, томских татар — 153 образцами, хантов — 129 образцов из тех же поселков. Тувинцы представлены 422 образцами мужчин из п. Тээли ($N = 44$), п. Кунгуртуг ($N = 47$), п. Тоора-Хем ($N = 35$) и г. Кызыл ($N = 296$).

Кластеризация массива генотипов аутосомных SNP и контроль качества выполнялись с использованием протокола, разработанного Guo et al. [16] с использованием GenomeStudio [17] (модуль генотипирования v2.0.3), программного пакета, который компания Illumina разработала для различных геномных анализов. Для фильтрации, нормализации и расчета стандартных геномных статистик и показателей оптимальным показал себя стандартный набор программ, включающий vcftools, bcftools и plink. Для анализа идентичных по происхождению блоков сцепления использовали алгоритм Refined IBD [18], показывающий более точные результаты по сравнению с встроенными в plink алгоритмами. Предварительно генотипы были фазированы с использованием программного обеспечения Beagle 5.1 [19]. Для сравнения популяций были получены суммы средних длин идентичных по происхождению блоков (сегментов IBD – Identical by descent) – между парами индивидов.

Для анализа генетических взаимоотношений между популяциями использовали метод главных компонент (PCA – Principal components analysis) [20, 21]. Для анализа компонентного состава и количества примесей у отдельных индивидов и популяций была использована методика NGS-Admix [22] и программа Admixture [23, 24].

Для изучения состава и структуры гаплогрупп Y-хромосомы в исследование были включены две системы генетических маркеров: диаллельных локусов, представленных SNP, и полиаллельных высоковариабельных микросателлитов (YSTR). С помощью 138 SNP-маркеров определяли принадлежность образцов к различным гаплогруппам. Классификация гаплогрупп дана в соответствии с данными Международного общества генетической генеалогии [25]. Анализ STR-гаплотипов внутри гаплогрупп проводили с использованием 45 микросателлитных маркеров нерекombинирующей части Y-хромосомы (YSTR) (DYS19, 385a, 385b, 388, 389I, 389II, 390, 391, 392, 393, 426, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 442, 444, 445, 448, 449, 456, 458, 460, 461, 481, 504, 505, 518, 525, 531, 533, 537, 552, 570, 576, 635, 643, YCAIIa, YCAIIb, GATA H4.1, Y-GATA-A10, GGAAT1B07). STR-маркеры генотипировали с помощью капиллярного электрофореза на генетическом анализаторе ABI Prism 3730. Генотипирование SNP-маркеров проводили с помощью ПЦР и последующего анализа фрагментов ДНК с помощью ПДРФ-анализа. Экспериментальные исследования проведены на базе Центра коллективного пользования научно-исследовательским оборудованием “Медицинская геномика” (НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ). Построение медианных сетей гаплотипов Y-хромосомы проводили с использованием программы Network v. 10.2.0.0 (Fluxus Technology Ltd.; www.fluxus-engineering.com) по методу медиан-

ных сетей Бандельта [26]. Оценку возраста генерации наблюдаемого разнообразия гаплотипов в гаплогруппах проводили методом ASD [27], на основании средних квадратичных отличий в числе повторов между всеми маркерами.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Генетические взаимоотношения чулымцев с другими популяциями Южной Сибири

При анализе массива данных по частотам аутосомных SNP с помощью метода PCA на уровне отдельных образцов (рис. 1) показано, что чулымцы, кеты и томские татары более гетерогенны по сравнению с хантами, хакасами, южными алтайцами и тувинцами. У чулымцев и кетов это связано с их метисацией на протяжении последних поколений, что подтверждено расчетом долей вклада различных популяций Восточной Европы в их генофонд методом NGS-Admix на уровне отдельных индивидов. У томских татар это объясняется разнородным составом предковых групп жителей трех поселков, которые представляют как автохтонное население, так и различных переселенцев. Расположение образцов из всех популяций на графике хорошо коррелирует с их географической локализацией. Чулымцы занимают примерно равноудаленное положение между кетами, хакасами и томскими татарами. Хакасы-сагайцы из Таштыпского р-на при этом ближе к ним, чем хакасы-качинцы. В состав этой территориальной группы хакасов помимо сагайцев вошли и абаканские шорцы, что было ранее показано при исследовании генетического профиля их родов по маркерам Y-хромосомы [28].

Компонентный состав генофонда популяций

Современные методы, применяемые в геномных исследованиях, и новые биоинформационные подходы позволяют достоверно выявлять предковые генетические компоненты разного происхождения в составе генофонда различных народов и отдельных людей. Моделирование с помощью Admixture в последнее время является одним из основных методов анализа при исследовании генофондов современных и древних популяций человека, позволяя анализировать одни и те же данные на разных иерархических уровнях. При задании числа предковых компонент 8 в большинстве южносибирских популяций выявляется специфичный для них генетический компонент (табл. 1), наиболее отчетливо проявляющийся на анализируемом массиве популяционных выборок при $K = 10$, который можно интерпретировать как “енисейский” генетический пласт в генофонде современных популяций.

Его максимальное значение (92%) показано именно у чулымцев. Существенную долю этот

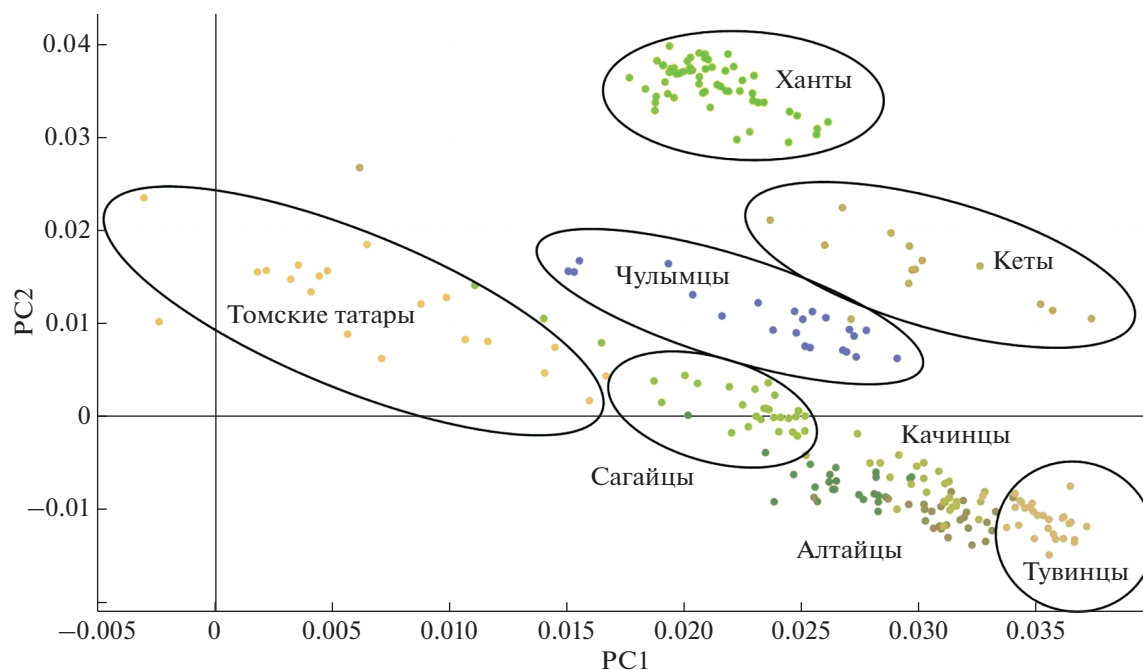


Рис. 1. Положение исследованных популяций в пространстве главных компонент по частотам аллелей 1.7 млн SNP.

компонент занимает также у кетов (64.7%). Вероятно, ассимиляция чулымцев проходила медленнее, чем кетов, значительно более метисированных за последние несколько поколений. Однако, несмотря на значительную примесь европеоидного происхождения, кеты сохранили значительную часть собственного енисейского генетического компонента. Практически все остальные доли различных генетических компонент кетов являются европейскими по происхождению по результатам расчетов Admixture и NGS-Admix. В отличие от кетов ассимиляция чулымцев проходила значительно медленнее, тем самым позволяя сохранять их генофонду.

Максимальная близость выборок чулымцев и кетов по компонентному составу подтверждает вклад в их генофонд местного автохтонного насе-

ления. Практически полное доминирование этого компонента у чулымцев не отрицает наличия генетических связей с хакасами, поскольку он присутствует у всех южносибирских народов с разной частотой. У хакасов-качинцев доля этого компонента составляет 24%. Изменение частот аллелей, которое привело к максимальной доле этого компонента именно у чулымцев, может быть объяснено не только смешением с местным кетским населением, но и генетико-демографическими событиями, такими как значительное увеличение численности относительно небольшой группы тюркских переселенцев и возможное влияние инбридинга.

Идентичные по происхождению блоки сцепления

В результате биоинформатической обработки данных генотипирования высокоплотных биочипов различных сибирских популяций был проведен анализ совпадения общих по происхождению фрагментов ДНК между популяциями и отдельными индивидами. Сегмент, имеющий идентичные нуклеотидные последовательности, является IBD у двух или более лиц, если они унаследовали его от общего предка без рекомбинации, т.е. у этих людей сегмент имеет общее происхождение. Ожидаемая длина сегмента IBD зависит от количества поколений с момента появления последнего общего предка. Одним из применений анализа общих по происхождению участков генома является количественная оценка степени родства между индивидами, что также может дополнить

Таблица 1. Доля енисейского компонента в популяциях

| Популяция | Доля енисейского компонента |
|----------------|-----------------------------|
| Чулымцы | 0.92176 |
| Кеты | 0.64735 |
| Тувинцы | 0.28398 |
| Хакасы-качинцы | 0.24578 |
| Южные алтайцы | 0.158742 |
| Томские татары | 0.09209 |
| Хакасы-сагайцы | 0.01658 |
| Ханты | 0.01257 |

информацию о генетических связях популяций [29]. Выборка чулымцев показала максимальное совпадение по IBD-блокам с выборкой кетов (11%), далее с хакасами-качинцами (10%), тувинцами (9%), хантами (8%) и хакасами-сагайцами (7%). Степень совпадения IBD-блоков позволяет более точно судить о генетическом родстве чулымцев с другими народами, по сравнению с анализом их компонентного состава. Эти результаты хорошо совпадают с данными PCA и Admixture по распределению в этих популяциях частот аллелей и общих генетических компонент.

Гаплогруппы Y-хромосомы

Несмотря на активное развитие геномных методов анализа, иерархический анализ гаплогрупп, определяемых на основании генотипирования SNP- и STR-маркеров ДНК Y-хромосомы, по-прежнему является одним из наиболее современных и результативных методов изучения популяционно-генетического разнообразия различных популяций человека. Высокие показатели межпопуляционного разнообразия Y-хромосомных линий делают их применение наиболее дифференцирующими из всех маркеров, применяемых в этногеномных исследованиях, и подчеркивают эффективность анализа гаплотипов Y-хромосомы для выявления различий между популяциями и при изучении миграций [30–32].

Все 29 образцов мужчин из Тюхтетского р-на и 21 образец мужчин из Тегульдетского р-на были прогенотипированы на SNP- и STR-маркеры Y-хромосомы. Принадлежность образцов к различным гаплогруппам полностью совпала с данными их анкет о происхождении по мужской линии. У 11 мужчин из Тюхтетского р-на и 6 мужчин из Тегульдетского р-на были подтверждены европейские гаплогруппы, демонстрирующие степень метисации с различной глубиной поколений (R1a1a1g2, R1b1a1b1a1, I2a1b2, N1a1a1a1a, N1c1a1a2, N1a2b2a1). Гаплотипы этих образцов очень близки к образцам из европейских выборок, кроме одного образца N1a2b2a1, который очень близок к образцам ненцев и коми. По данным анкеты дед этого индивида по отцовской линии записан как “русский”. Вероятно, он был коми по мужской линии, но при анкетировании упомянут как русский. К ненцам эта европейская сублиния N1a2b2a1 попала при их метисации с недавно переселившимися на Ямал коми. По результатам генотипирования на маркеры Y-хромосомы эти образцы были исключены из списка для анализа с помощью микрочипов.

Все остальные образцы мужчин чулымцев принадлежат к двум сибирским гаплогруппам — Q1b1a3b1a (11 образцов из Томской области, 2 образца из Красноярского края) и N1a2b1b1 (4 образца из Томской области, 16 образцов из Красно-

ярского края). Значительное различие в частоте этих двух гаплогрупп между выборками из двух районов может быть связано: а) с небольшой численностью чулымцев и возможными колебаниями числа сыновей у носителей этих двух линий из поколения в поколение и б) различием вклада пришлого тюркского и автохтонного населения в генофонд разных поселков.

Чулымская сублиния Q1b1a3b1a-BZ94, BZ99, BZ110 (xYR1691, B30) не обнаружена нами в других исследованных популяциях. По гаплотипам эта линия наиболее близка к образцам хакасских сеоков хахпына и пилтир из Таштыпского р-на Хакасии, принадлежащим к сестринской сублинии Q1b1a3b3-Y12691. Другие сублинии Q1b1a3b, распространенные у кетов, тувинцев, южных алтайцев и хантов, значительно отличаются от чулымской и хакасской веток и по терминальным SNP, и по гаплотипам.

Различные сублинии этой гаплогруппы маркируют в генофондах современных популяций Южной и Западной Сибири енисейский генетический компонент, являющийся наиболее древним в этом регионе. Наиболее вероятно, что ее присутствие у чулымцев связано не с недавним заимствованием у местного аборигенного населения (кетов и селькупов), а с тем, что она уже входила в состав расселявшейся по Чулыму тюркоязычной предковой группы. В генофонде хакасов, шорцев, алтайцев, хантов и тувинцев она связана с ассимиляцией различных кетоязычных и родственных им народов, говорящих на языках енисейской семьи. Это, конечно, не отрицает возможного вклада местного самодийского и кетского населения в генофонд чулымцев не только по женским, но и мужским линиям, которые могли быть утрачены через несколько веков после их ассимиляции.

Сублиния N1a2b1b1 у чулымцев мутантна по терминальным SNP-маркерам VL65, Z35095, Z35099, Z35102 и является наиболее близкой к сестринской ей линии N1a2b1b1 у хакасов-качинцев с дополнительными мутациями по маркерам Z35093, Z35097, Z35103 (ранее описанной нами как N1a2b2a2-VL67 [33]). Медианная сеть гаплотипов (рис. 2) демонстрирует у чулымцев звездообразную филогению с недавним эффектом основателя и доминированием по частоте предкового гаплотипа. Существенных различий по гаплотипам между чулымцами Томской области и Красноярского края не обнаружено. Кластер чулымских гаплотипов равноудален от всех качинских сеоков. Возраст этого кластера у чулымцев составил 667 лет (SD = 194 года), что достаточно хорошо совпадает с предположительным временем расселения предков чулымцев на север и возрастом формирования аналогичных стар-кластеров для качинских сеоков хасха — 487 лет (SD = 153 года), ызыр — 501 год (SD = 203 года) и соххы — 585 лет (SD = 215 лет)

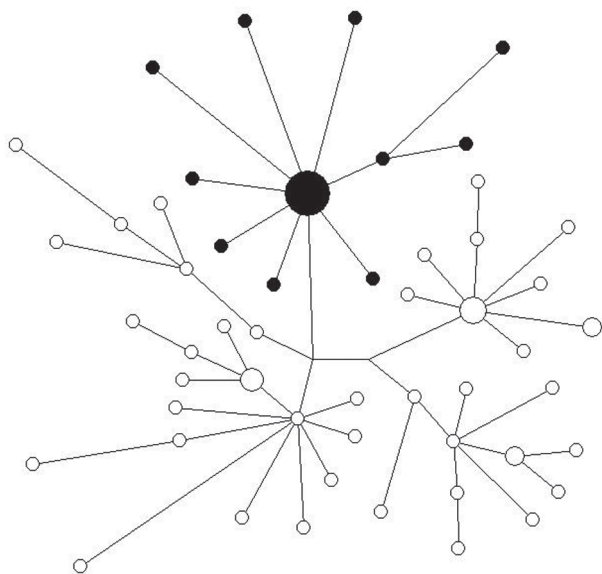


Рис. 2. Медианная сеть YSTR-гаплотипов гаплогруппы N1a2b1b1 у чулымцев и хакасов-качинцев. Черным цветом обозначены чулымцы, белым — хакасы.

[33]. Все остальные образцы мужчин из различных западно- и южносибирских популяций (ненцев, энцев, хантов, хакасов-сагайцев, бельтиров, бирюсинцев, шорцев, челканцев и тувинцев) относятся к другим сублиниям гаплогруппы N1a2.

Таким образом, чулымцы, как и качинцы и сагайцы, по мужской линии также имеют прямую генетическую связь с народами самодийской языковой группы. Гаплогруппа N1a2b наиболее распространена именно у современных самодийских народов: ненцев, энцев, нганасан, а также у южносибирских хакасов и тувинцев, для которых самодийский компонент является частью их генофонда [34, 35].

Расширенный состав терминальных SNP для выявленных гаплогрупп позволил детально охарактеризовать и проанализировать различия в гаплотипической структуре отдельных этноспецифичных сублиний, определить их родство, следы экспансии численности в генофонде чулымцев и их соседей. Результаты сравнительного анализа образцов мужчин свидетельствуют о близком генетическом родстве между чулымцами и качинцами по линии N1a2b1b1, а также с таштыпскими сагайцами по Q1b1a3b. К сожалению, у нас отсутствуют образцы кызыльцев, с которыми чулымцы имеют максимальную близость по языку. Не исключено, что хакасы-кызыльцы окажутся ближе к чулымцам, чем качинцы и сагайцы. Специфичность гаплотипов и отсутствие полных совпадений между чулымцами и хакасами свидетельствуют о том, что недавних брачных контактов и миграций между ними не было. После переселения на север предков современных чулымцев, судя по всему,

не происходило последующих волн расселения с территории современной Хакасии и обмена генами на протяжении последних нескольких сотен лет.

Данные по линиям Y-хромосомы у чулымцев и других популяций хорошо согласуются с итогами анализа частот аутомных SNP методами PCA, Admixture и IBD. Полученные результаты не противоречат общепринятым версиям этногенеза чулымцев, но заставляют по-новому взглянуть на этот процесс. Основным фактором формирования генофонда чулымцев была их генетическая изоляция от родственных хакасских групп и смешение с местным кетоязычным и возможно селькупским коренным населением. Новая информация о структуре генофонда чулымцев является важным дополнением к существующим антропологическим, археологическим, этнологическим и лингвистическим данным о их формировании и родственных связях с другими народами.

Таким образом, генофонд чулымцев представляет собой разнородный набор составляющих, в который вошли как местный автохтонный кетский и возможно селькупский компоненты, так и наследие пришлого тюркского населения, которое включало фрагменты енисейского и самодийского генофонда, показывающие их связь с различными группами современных хакасов и другими популяциями Южной Сибири.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Федеральная научно-техническая программа развития генетических технологий на 2019–2027 гг., соглашение № 075-15-2021-1061, РФ 193021X0029).

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Всероссийская перепись населения 2010 URL: <http://www.perepis-2010.ru>
2. Функ Д.А., Томилов Н.А. Тюркские народы Сибири. М.: Наука, 2006. С. 125–168.
3. Дульзон А.П. Поздние археологические памятники Чулыма и проблема происхождения чулымских татар // Уч. зап. ТГПИ. Томск, 1953. С. 127–334.
4. Лебец Г.Ф. Селькупы (Антропологический очерк) // Труды Ин-та этнографии АН СССР. Нов. серия. Т. II. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1947. С. 103–145.

5. *Розов Н.С.* Антропологические исследования коренного населения Западной Сибири // Вопросы антропологии. 1961. Вып. 6. С. 71–91.
6. *Дремов В.А.* Антропологический состав и внешние связи чулымских тюрков по данным краниологии // Этническая история тюркских народов Сибири и сопредельных территорий. Омск: Омский ун-т, 1984. С. 27–30.
7. *Дремов В.А.* Материалы по краниологии тюркоязычного населения Томского Приобья // Антропология и историческая этнография Сибири. Омск: Омский ун-т, 1990. С. 52–72.
8. *Дремов В.А.* Краниометрия // Тюрки таежного Причулымья: популяция и этнос. Томск: Изд-во Томского ун-та, 1991. С. 166–199.
9. *Долгих Б.О.* Родовой и племенной состав населения Сибири в XVII в. М.: Изд-во АН СССР, 1960. Т. 55. С. 94–104.
10. *Потанов Л.П.* О национальной консолидации народов Сибири // Вопр. истории. 1955. № 10. С. 59–67.
11. *Емельянов Н.Ф.* Чулымцы в феодальную эпоху // Археология Прииртышья. Томск: Изд-во Томского ун-та, 1989. С. 161–170.
12. *Кузнецов-Красноярский И.П.* Заметки о древних обитателях южной части Енисейской губернии // Сиб. наблюдатель. Кн. 5, 6, 7. Томск, 1902. С. 2–38.
13. *Лавряшина М.Б.* Комплексное исследование динамики демографических процессов и структуры генофонда коренных народов Южной Сибири: Дис. ... докт. биол. наук. М.: Мед.-генет. науч. центр РАМН, 2012. 406 с.
14. *Лавряшина М.Б., Ульянова М.В., Толочко Т.А. и др.* Шорцы: сходство и различие территориальных групп по данным фонда фамилий и аутосомных ДНК маркеров // Вестн. Московского ун-та. Антропология. Серия 23. 2011. № 2. С. 66–77.
15. *Агджоян А.Т., Балановская Е.В., Падюкова А.Д. и др.* Генофонд сибирских татар: пять субэтносов – пять путей этногенеза // Мол. биология. 2016. Т. 50. № 6. С. 978–991.
<https://doi.org/10.7868/S0026898416060021>
16. *Guo Y., He J., Zhao S. et al.* Illumina human exome genotyping array clustering and quality control // Nat. Protocols. 2014. V. 9. P. 2643–2662.
<https://doi.org/10.1038/nprot.2014.174>
17. Illumina. GenomeStudio. URL: https://emea.support.illumina.com/array/array_software/genomestudio/downloads.html (accessed 18 October 2021).
18. *Browning B.L., Browning S.R.* Improving the accuracy and efficiency of identity-by-descent detection in population data // Genetics. 2013. V. 194. № 2. P. 459–471.
<https://doi.org/10.1534/genetics.113.150029>
19. *Browning S.R., Browning B.L.* Rapid and accurate haplotype phasing and missing-data inference for whole-genome association studies by use of localized haplotype clustering // Am. J. Hum. Genet. 2007. V. 81. № 5. P. 1084–1097.
<https://doi.org/10.1086/521987>
20. *Patterson N., Price A.L., Reich D.* Population structure and eigenanalysis // PLoS Genet. 2006. V. 2. № 12. P. 2074–2093.
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0020190>
21. *Menozi P., Piazza A., Cavalli-Sforza L.* Synthetic maps of human gene frequencies in Europeans // Science. 1978. V. 201. № 4358. P. 786–792.
<https://doi.org/10.1126/science.356262>
22. *Skotte L., Korneliussen T., Albrechtsen A.* Estimating individual admixture proportions from next generation sequencing data // Genetics. 2013. V. 195. № 3. P. 693–702.
<https://doi.org/10.1534/genetics.113.154138>
23. *Alexander D.H., Novembre J., Lange K.* Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals // Genome Res. 2009. V. 19. № 9. P. 1655–1664.
<https://doi.org/10.1101/gr.094052.109>
24. *Alexander D.H., Lange K.* Enhancements to the ADMIXTURE algorithm for individual ancestry estimation // BMC Bioinformatics. 2011. V. 12. P. 212–246.
<https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-246>
25. International Society of Genetic Genealogy. URL: <http://www.isogg.org/>
26. *Bandelt H.J.* Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // Mol. Biol. Evol. 1999. V. 16. P. 37–48.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036>
27. *Zhivotovsky L.A., Underhill P.A., Cinnioglu C. et al.* On the effective mutation rate at Y-chromosome STRs with application to human population divergence time // Am. J. Hum. Genet. 2004. V. 74. P. 50–61.
<https://doi.org/10.1086/380911>
28. *Харьков В.Н., Новикова Л.М., Штыгашева О.В. и др.* Генофонд хакасов и шорцев по маркерам Y-хромосомы: общие компоненты и генетическая структура родов // Генетика. 2020. Т. 56. № 7. С. 826–833.
<https://doi.org/10.31857/S0016675820070073>
29. *Gusev A., Kenny E., Salit J. et al.* DASH: A method for identical-by-descent haplotype mapping uncovers association with recent variation // Am. J. Hum. Genet. 2011. V. 88. P. 706–717.
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2011.04.023>
30. *Ballantyne N., Keerl V., Wollstein A. et al.* A new future of forensic Y-chromosome analysis: Rapidly mutating Y-STRs for differentiating male relatives and paternal lineages // Forensic Sci. Int. Genet. 2011.
<https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2011.04.017>
31. *Kayser M., Kittler R., Erler A. et al.* A Comprehensive survey of human Y-chromosomal microsatellites // Am. J. Hum. Genet. 2004. V. 74. P. 1183–1197.
<https://doi.org/10.1086/421531>
32. *Burgarella C., Navascues M.* Mutation rate estimates for 110 Y-chromosome STRs combining population and father-son pair data // Eur. J. Hum. Genet. 2011. V. 19. P. 70–75.
<https://doi.org/10.1038/ejhg.2010.154>
33. *Харьков В.Н., Хамина К.В., Медведева О.Ф. и др.* Разнообразие генофонда хакасов: внутриэтническая дифференциация и структура гаплогрупп Y-хромосомы // Мол. биология. 2011. Т. 45. № 3. С. 446–458.
34. *Iumäe A.-M., Reidla M., Chukhryaeva M. et al.* Human Y-chromosome haplogroup N: A non-trivial time-resolved phylogeography that cuts across language families // Am. J. Hum. Genet. 2016. V. 99. P. 163–173.
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.05.025>
35. *Харьков В.Н., Хамина К.В., Медведева О.Ф. и др.* Структура генофонда тувинцев по маркерам Y-хромосомы // Генетика. 2013. Т. 49. № 12. С. 1416–1425.
<https://doi.org/10.7868/S0016675813120035>

Genetic Interrelation of the Chulym Turks with Khakass and Kets according to Autosomal SNP Data and Y-Chromosome Haplogroups

L. V. Valikhova^{a, *}, V. N. Kharkov^a, A. A. Zarubin^a, N. A. Kolesnikov^a, М. Г. Сваровская^a,
I. Yu. Khitrinskaya^a, O. V. Shtygasheva^b, V. G. Volkov^a, and V. A. Stepanov^a

^a*Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences,
Research Institute of Medical Genetics, Tomsk, 634050 Russia*

^b*Katanov Khakassian State University, Abakan, 655017 Russia*

**e-mail: Larisa_Ermizova9@mail.ru*

The structure of the gene pool of the Chulym Turks, Kets, Khakass and other South Siberian populations was studied using microarrays and Y-chromosome markers. The results of the analysis of the frequencies of autosomal SNPs by various methods, the similarity in the composition of the Y-chromosome haplogroups and YSTR haplotypes indicate that the gene pool of the Chulyms was formed during the resettlement of Turkic groups from the territory of Khakassia and their mixing with the local autochthonous population. Two dominant Y-chromosome haplogroups in the Chulyms and haplotype clusters demonstrate the founder effect, the formation age of which is fully consistent with the data on their ethnogenesis. Analysis of the composition of the genetic components and IBD blocks demonstrates their genetic affinity with the Kets, Khakass, and Tomsk Tatars. This confirms the information about the formation of their gene pool as a result of the mixing of alien and indigenous populations of the Chulym basin.

Keywords: gene pool, population, genetic diversity, genetic components, Y-chromosome, Chulyms, Khakass, Kets.

УДК 575.224.46

**ADAMTS1 ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО ЭКСПРЕССИРУЕТСЯ
В ЛИМФОЦИТАХ ИНДИВИДОВ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ
ЭНДОГЕННЫХ ФОКУСОВ γ H2AX И ЧАСТОТОЙ
РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫХ МИКРОЯДЕР**

© 2022 г. С. А. Васильев^{1, *}, Р. Р. Савченко¹, А. А. Беленко¹, Н. А. Скрябин¹, А. А. Слепцов¹,
В. С. Фишман², А. А. Мурашкина³, О. В. Грибова⁴, Ж. А. Старцева⁴, Е. С. Сухих^{5, 6},
А. В. Вергинский^{5, 6}, Л. Г. Сухих⁶, О. Л. Серов², И. Н. Лебедев¹

¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук, Томск, 634050 Россия

²Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения
Российской академии наук, Новосибирск, 630090 Россия

³Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, 634050 Россия

⁴Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук, Томск, 634009 Россия

⁵Томский областной онкологический диспансер, Томск, 634063 Россия

⁶Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск, 634050 Россия

*e-mail: stanislav.vasilyev@medgenetics.ru

Поступила в редакцию 04.04.2022 г.

После доработки 06.05.2022 г.

Принята к публикации 12.05.2022 г.

Уровень спонтанных и радиационно-индуцированных повреждений ДНК в соматических клетках человека варьирует в зависимости от генетических и средовых факторов. Такая вариация может быть ассоциирована с транскрипционными изменениями в клетках, позволяя использовать уровень экспрессии генов в качестве маркеров индивидуальной чувствительности к мутагенному воздействию. Данное исследование было направлено на выявление и характеристику дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) в лимфоцитах индивидов с различным уровнем эндогенных фокусов белков репарации ДНК γ H2AX и частотой радиационно-индуцированных микроядер ($n = 37$). Группа с низким уровнем фокусов характеризовалась 0.18 ± 0.02 фокусов γ H2AX на клетку и частотой радиационно-индуцированных микроядер $155.78 \pm 47.19\%$. Группа с высоким уровнем фокусов характеризовалась 0.49 ± 0.07 фокусов γ H2AX на клетку и частотой микроядер $78.44 \pm 33.21\%$. С помощью полнотранскриптомного анализа профиля экспрессии генов было выделено семь ДЭГ (*ENST00000424415*, *CRNDE*, *ADAMTS1*, *ENST00000424084*, *EIF2A*, *PNPLA5*, *FRG2C*) ($FDR < 0.2$). Поскольку металлопротеиназа межклеточного матрикса ADAMTS1 может активировать латентную форму TGF β , а TGF β вовлечен в радиационно-индуцированный клеточный ответ, в модельной системе на основании клеточной линии HeLa было изучено влияние дифференциальной экспрессии данного гена на транскрипционный профиль. Показано, что 29 из 160 выявленных ДЭГ вовлечены в апоптоз, репарацию ДНК, переход клеточного цикла из стадии G₂ в M и сигнальный путь TGF β . Таким образом, ADAMTS1 может быть рассмотрен в качестве потенциальной мишени для противоопухолевой терапии.

Ключевые слова: радиочувствительность, гамма-H2AX, микроядра, гамма-излучение, профиль экспрессии генов, ADAMTS1, биомаркеры.

DOI: 10.31857/S0016675822100125

Популяция человека характеризуется широкой вариабельностью индивидуальной чувствительности к воздействию ионизирующего излучения (ИИ). С одной стороны, радиочувствительность определяется индивидуальной генетической конституцией, с другой — на радиочувствительность могут влиять многие факторы окружающей среды, включая

предыдущее воздействие ИИ, связанное с формированием адаптивного ответа [1]. Известно, что повышенная радиочувствительность может являться следствием мутаций в генах, вовлеченных в ответ на повреждение ДНК, как, например, при ряде тяжелых наследственных синдромов, включая атаксию—телеангиэктазию и синдром Ниймеген

[2]. Однако эти редкие наследственные состояния объясняют только малую часть популяционной вариативности индивидуальной радиочувствительности, поэтому наиболее вероятно, что данный феномен определяется генетическим вкладом многих аллелей с низкой пенетрантностью [3]. В последние годы значительные успехи широкогеномных ассоциативных исследований в области радиогеномики позволили выявить SNPs и паттерны экспрессии генов, ассоциированные с повышенным риском развития побочных эффектов лучевой терапии [4–7]. Помимо экспрессии генов, для прогнозирования радиочувствительности могут быть использованы такие функциональные маркеры, как апоптотический индекс [8, 9], частота хромосомных aberrаций [10–12] и уровень фокусов белков репарации двунитевых разрывов ДНК [3, 13, 14].

Радиационно-индуцированные фокусы γ H2AX и 53BP1 являются хорошо известными маркерами двухцепочечных разрывов ДНК [15], в то время как природа эндогенных фокусов этих белков изучена недостаточно. Эндогенные фокусы γ H2AX могут маркировать нерепарированные двухцепочечные разрывы ДНК, вызванные окислительными агентами или другими факторами [16]. Более того, данные фокусы можно увидеть в местах локальных изменений в структуре хроматина после завершения репарации двунитевых разрывов ДНК [17, 18] или на укороченных теломерах [19, 20], которые являются маркером клеточного старения [21].

Фокусы белков репарации ДНК – это молекулярные машины, состоящие из множества белков, вовлеченных в ответ на повреждение ДНК [22], которые потенциально могут влиять на транскрипционный профиль генов. Однако остается неясным, отличается ли транскрипционный профиль в клетках индивидов с различным уровнем эндогенных фокусов белков репарации двунитевых разрывов ДНК. Поэтому цель данного исследования заключалась в выявлении и описании дифференциально-экспрессирующихся генов в клетках индивидов с различным уровнем фокусов белков репарации двунитевых разрывов ДНК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Цельная кровь была получена от 37 здоровых добровольцев мужского пола, проживающих в г. Томск и г. Северск (РФ), не подвергавшихся профессиональному воздействию ИИ в возрасте 24–72 лет (38.9 ± 13.9 лет). 16 индивидов были курьщиками. От каждого участника исследования было получено добровольное информированное согласие. Исследование было одобрено локальным

этическим комитетом НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ (№ 4 от 21.11.2017).

Модельная система с нокаутом и транзientной экспрессией гена *ADAMTS1* была создана на основании клеточной линии HeLa (карцинома шейки матки), любезно предоставленной к. б. н. М.А. Булдаковым (НИИ онкологии Томского НИМЦ).

Забор материала и культивирование

Забор цельной крови осуществлялся в вакуумные пробирки с гепарином натрия (Greiner, Германия). Для анализа частоты микроядер в двухъядерных клетках 1.5 мл цельной крови после воздействия ИИ культивировали в 6 мл среды RPMI 1640 (ПанЭко, Россия), содержащей 10%-ную эмбриональную телячью сыворотку (ЭТС) (NuClone, США) и 20 мкг/мл фитогемагглютинаина. Через 44 ч в культуру были добавлены 6 мкг/мл цитохалазина В (Sigma, США), а через 72 ч культивирования была проведена фиксация раствором метанол–уксусная кислота 3 : 1.

Мононуклеары периферической крови (МПК) для оценки уровня фокусов γ H2AX и 53BP1 и выделения РНК для анализа экспрессии генов были выделены из необлученных образцов цельной крови с помощью центрифугирования в градиенте фиколла (ПанЭко) с последующей отмывкой в однократном фосфатно-солевом буфере (ПанЭко).

Клеточные линии культивировали в среде DMEM (ПанЭко) с добавлением 10% ЭТС и 0.02 мг/мл эритромицина (Синтез, Россия) при 37°C и 5% CO₂.

Иммуноокрашивание и анализ уровня фокусов γ H2AX и 53BP1

Процедура иммуноокрашивания была проведена по протоколу, описанному в [23], с использованием первичных моноклональных антител мыши к белку γ H2AX (Novus Biologicals) и поликлональных антител кролика к белку 53BP1 (Novus Biologicals) в разведении 1 : 400. В качестве вторичных антител были использованы антитела козы к антителам мыши AF 488 (Thermo, США) и антитела козы к антителам кролика AF 546 (Thermo) в разведении 1 : 400.

Микрофотографии были получены с помощью микроскопа AxioImager Z2 (Carl Zeiss, Германия) с автоматической системой анализа препаратов Metafer (MetaSystems, Германия) с использованием фильтров для DAPI, родамина и FITC. Результирующие изображения получали путем слияния снимков 15 фокальных плоскостей с шагом 0.5 мкм. Фокусы белков репарации ДНК анализировали визуально в 150–200 клетках. Распределение числа фокусов γ H2AX и 53BP1 аппроксимировали с помощью распределения Пуассона,

Таблица 1. Праймеры для ПЦР в реальном времени

| Олигонуклеотид | Последовательность |
|-----------------------|--------------------------------|
| <i>ADAMTS1</i> _exp_F | 5'-ACATGATGGCGTCAATGC-3' |
| <i>ADAMTS1</i> _exp_R | 5'-ATCAAACATTCCCCATGACC-3' |
| <i>ALPK2</i> _exp_F | 5'-CCATAGCCCAAGTGCAGAGA-3' |
| <i>ALPK2</i> _exp_R | 5'-TTCCGTAGCTGCTGTTCTTGATGC-3' |
| <i>LXN</i> _exp_F | 5'-GAGGATATTCCAGGAAGAGGACA-3' |
| <i>LXN</i> _exp_R | 5'-TTCTTGTCCCGTTGAAGGGT-3' |
| <i>RPS18</i> _exp_F | 5'-GAGGATGAGGTGGAACGTGT-3' |
| <i>RPS18</i> _exp_R | 5'-GGCTAGGACCTGGCTGTATTT-3' |
| <i>SEPP1</i> _exp_F | 5'-ACTGCTCTCTCACGACTCTC-3' |
| <i>SEPP1</i> _exp_R | 5'-TGGTAATGAGGCGATGGAGT-3' |

как описано в [24], и в последующем анализе вместо среднего числа фокусов была использована λ из распределения Пуассона.

Воздействие ионизирующим излучением

Образцы цельной крови и клеточные линии HeLa с дифференциальной экспрессией *ADAMTS1* подвергали воздействию γ -излучения ^{60}Co в дозе 2 Гр с использованием гамма-терапевтического аппарата Theratron Equinox 100 (Best Theratronics, Канада). Образцы цельной крови были облучены в НИИ онкологии Томского НИМЦ. Клетки HeLa были облучены в Томском областном онкологическом диспансере. Все экспериментальные образцы транспортировались на льду.

Микроядерный тест

Микроядерный тест в лимфоцитах периферической крови был проведен в сочетании с флуоресцентной *in situ* гибридизацией (FISH) с панцентромерными ДНК-зондами, полученными с помощью ПЦР как описано ранее [25], и мечеными TAMRA-dUTP (БиоСан, Россия) в ходе ник-трансляции. FISH была проведена по протоколу, описанному в [26]. Частота центромеро-положительных (MnC⁺) и центромеро-отрицательных (MnC⁻) микроядер была оценена по наличию флуоресцентного сигнала от панцентромерного ДНК-зонда с помощью микроскопа AxioImager Z2 (Carl Zeiss, Германия) с фильтрами DAPI и TAMRA путем подсчета 2000 двухъядерных клеток.

Анализ экспрессии генов

РНК из МПК была выделена с помощью набора RNeasy Micro Kit (Qiagen, США) по протоколу производителя. Качество образцов оценивали по показателю целостности РНК (RIN 8.0–10.0) с

использованием Agilent 2200 TapeStation (Agilent Technologies, США). Мечение и гибридизацию проводили с использованием микрочипов SurePrint G3 Human GE v2, 8×60K (Agilent Technologies), которые сканировали с помощью сканера Agilent SureScan (Agilent Technologies) в соответствии с рекомендациями производителя.

Клеточные линии HeLa подвергали воздействию γ -излучения в дозе 2 Гр и помещали в CO₂-инкубатор на 30 мин при 37°C. Затем клетки промывали 1× PBS и лизировали для выделения РНК с использованием реактива Лира (Биолабмикс, Россия) в соответствии с протоколом производителя. Выделенные образцы РНК очищали с использованием мини-набора RNeasy (Qiagen, США) в соответствии с протоколом производителя. Качество РНК оценивали по числу целостности РНК (RIN 9.0–10.0) с использованием системы Agilent 2100 (Agilent Technologies). Полногеномный анализ экспрессии генов проводили с использованием микрочипов SurePrint G3 Human Gene Expression v2 8×60K (Agilent Technologies) в соответствии с протоколом производителя (версия 6.9.1 от декабря 2015 г.).

Для оценки экспрессии *ADAMTS1* и ДЭГ в клеточной линии HeLa была проведена ПЦР в реальном времени. РНК для ПЦР-анализа была выделена через 30 мин после облучения, как было описано ранее. Полученные образцы были обработаны ДНКазой I (Thermo, США) и использованы для синтеза кДНК с помощью набора реагентов RT-M-MuLV-RH (Biolabmix, Россия) в соответствии с протоколом производителя. ПЦР в реальном времени проводили с использованием BioMaster HS-qPCR SYBR Blue (Biolabmix, Россия). Праймеры для *ADAMTS1*, *SEPP1*, *LXN*, *ALPK2* и *RPS18* (референс) были разработаны с использованием инструмента для создания праймеров NCB IPrimer Blast (табл. 1).

Создание клеточных линий с нокаутом и сверхэкспрессией гена ADAMTS1

Клеточная линия HeLa с нокаутом гена *ADAMTS1* была получена путем внесения мутации сдвига рамки считывания во второй экзон гена с помощью технологии редактирования генома CRISPR/Cas9, как описано в [27]. Сверхэкспрессия *ADAMTS1* в HeLa была обеспечена с помощью транзientной трансфекции плазмиды *ADAMTS1_pCSdest* (Addgene, 53807) [28], содержащей кодирующую последовательность гена *ADAMTS1*, как описано в [27].

Статистический анализ данных

Статистический анализ профилей экспрессии генов проводили в среде R на \log_2 -трансформированных данных, после фоновой коррекции и межчиповой квантильной нормализации. Для межгрупповых сравнений использовали модифицированный *t*-критерий с учетом доли ложноположительных результатов. Данные, обсуждаемые в настоящей публикации, были депонированы в Gene Expression Omnibus и доступны через номер доступа серии GEO GSE97000 [29]. Все остальные статистические анализы выполнялись с помощью рангового критерия Манна–Уитни для групповых сравнений и критерия Спирмена для корреляционного анализа с использованием STATISTICA 8.0 (Statsoft, США).

Для аннотирования ДЭГ использовали базу данных DAVID и инструмент STRING для анализа предсказанных функциональных взаимодействий на уровне белков. Статистический анализ данных, полученных в ходе ПЦР в реальном времени, проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента в STATISTICA 8.0 (Statsoft). Различия считались статистически значимыми при $FDR < 0.2$ для анализа экспрессии генов после применения поправки на множественность сравнения и $p < 0.05$ для других анализов. Численные данные представлены в виде среднего значения \pm стандартное отклонение (SD).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Фокусы белков репарации ДНК и частота микроядер в МПК

В необлученных МПК частота эндогенных фокусов белков репарации составила 0.30 ± 0.19 фокусов/клетку для γ H2AX и 1.23 ± 0.81 для 53BP1, а частота γ H2AX коррелировала с частотой фокусов 53BP1 ($R = 0.48$, $p = 0.006$) (рис. 1,а). Однако только 12.3% фокусов γ H2AX были колокализованы с 53BP1. Частота микроядер статистически значимо увеличилась с $5.9 \pm 2.2\%$ (MnC–: 3.8 ± 1.8 , MnC+: 2.1 ± 1.7) в необлученных лимфоцитах до $111.7 \pm 43.1\%$ (MnC–: 105.6 ± 41.9 ,

MnC+: 6.1 ± 6.5) после облучения в дозе 2 Гр ($p < 0.001$) (рис. 1,б). Возраст и статус курения не оказывали существенного влияния на уровень фокусов белков репарации ДНК или микроядер (данные не представлены).

Была показана отрицательная корреляция между уровнем эндогенных фокусов γ H2AX в МПК и частотой радиационно-индуцированных центромеро-негативных микроядер ($R = -0.37$, $p = 0.025$) (рис. 1,в). Однако уровень эндогенных фокусов 53BP1 не коррелировал ни с частотой эндогенных, ни с частотой радиационно-индуцированных центромеро-негативных микроядер (рис. 1,г). Возможно, наблюдаемый эффект мог быть результатом потенциального влияния эндогенных фокусов γ H2AX на активацию и арест клеточного цикла. Однако доля двухъядерных клеток в облученных клетках обратно коррелировала с частотой центромеро-негативных микроядер после облучения ($R = -0.36$, $p = 0.041$), но не с частотой фокусов γ H2AX и 53BP1.

Дифференциально-экспрессирующиеся гены в МПК

Полнотранскриптомные профили экспрессии генов были проанализированы в двух группах МПК: 1) с высокой частотой радиационно-индуцированных центромеро-негативных микроядер и низким уровнем эндогенных фокусов γ H2AX ($n = 3$) (группа с низким уровнем фокусов – **НФ**); 2) с низкой частотой радиационно-индуцированных центромеро-негативных микроядер и высоким уровнем эндогенных фокусов γ H2AX ($n = 3$) (группа с высоким уровнем фокусов – **ВФ**) (табл. 2).

Анализ результатов микрочипового исследования с использованием *t*-критерия Стьюдента с поправкой на множественность сравнения показал статистически значимые различия в экспрессии генов *FDXR*, *EDA2R*, *ENST00000424084*, *TNFRSF10B*, *ENST00000452402*, *RPS27L*, *FRG2C*, *BBC3*, *PVT1*, *PHLDA3*. Воздействие радиации повышало экспрессию шести генов в обеих группах лиц: *FDXR*, *EDA2R*, *TNFRSF10B*, *BBC3*, *RPS27L* и *PHLDA3*. Согласно данным литературы, экспрессия *FDXR* и *EDA2R* активируется в ответ на облучение, и эти гены используются в качестве биодозиметров [30].

Некоторые гены дифференциально экспрессировались у индивидов с различным уровнем фокусов белков репарации ДНК и частотой микроядер. Так, в необлученных лимфоцитах экспрессия гена *ADAMTS1* и двух генов длинных некодирующих РНК (*ENST00000424415* и *XLOC_011950* (*CRNDE*)) была статистически значимо выше в группе индивидов с высоким уровнем фокусов белков репарации и низкой частотой микроядер (табл. 3). После облучения наблюдалось возрастание уровня экспрессии генов *ENST00000424415*,

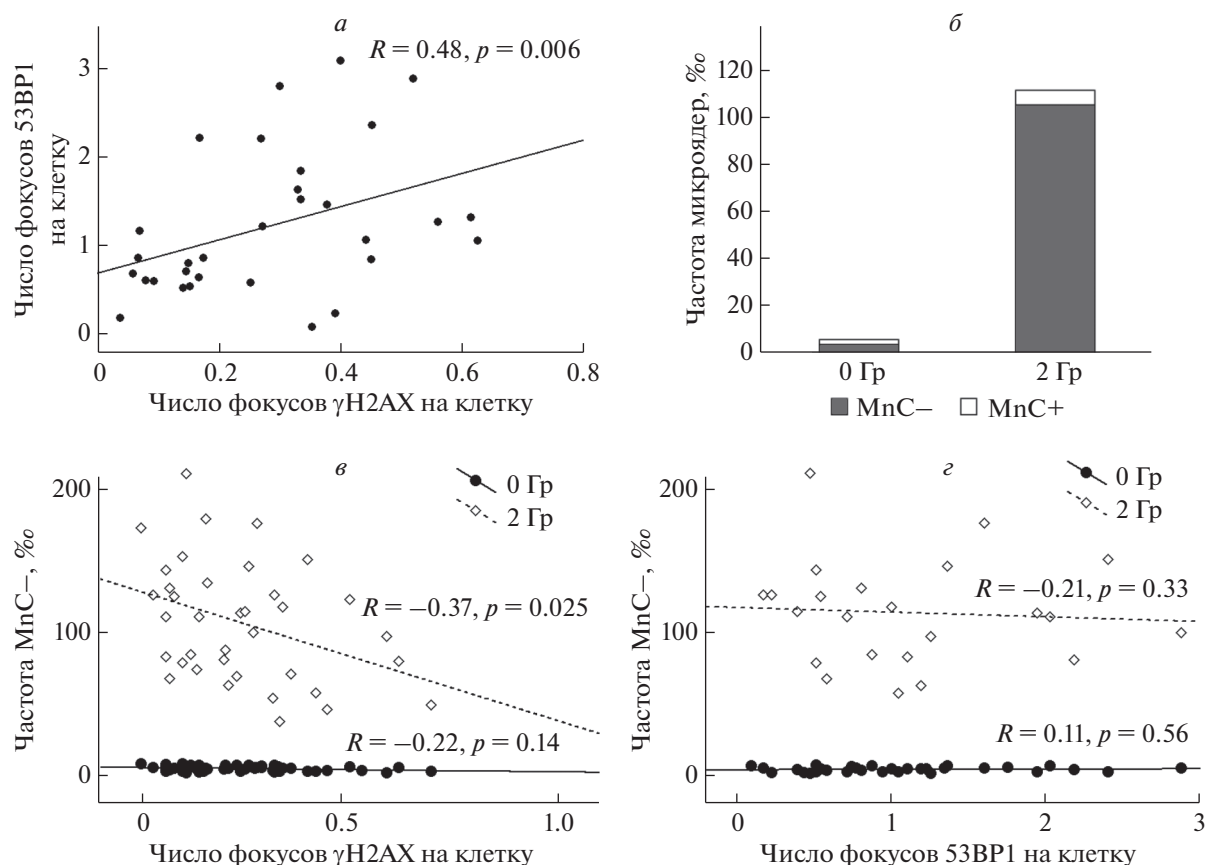


Рис. 1. Уровень эндогенных фокусов γ H2AX и 53BP1 и частоты эндогенных и радиационно-индуцированных микроядер в МПК здоровых индивидов ($n = 37$). а – корреляция между фокусами γ H2AX и 53BP1 в МПК у одних и тех же индивидов; б – частоты MnC– и MnC+ в необлученных лимфоцитах и в лимфоцитах через 72 ч после облучения γ -излучением в дозе 2 Гр; в – корреляция эндогенного уровня фокусов γ H2AX в МПК с частотой эндогенных и радиационно-индуцированных MnC-микроядер через 72 ч после облучения; з – отсутствие корреляции между уровнями эндогенных фокусов 53BP1 в МПК и частотами эндогенных и радиационно-индуцированных MnC-микроядер через 72 ч после облучения.

XLOC_011950 (CRNDE) и *ADAMTS1* в группе ВФ и снижение экспрессии *EIF2A*, *PNPLA5* и *FRG2C* и транскрипта *ENST00000424084* по сравнению с группой НФ (табл. 3).

Принимая во внимание, что *ADAMTS1* был единственным белок-кодирующим геном со значимо отличающейся экспрессией при $FDR < 0.05$, эффекты дифференциальной экспрессии *ADAMTS1* были изучены в модельной системе с нокаутом и сверхэкспрессией *ADAMTS1* на основании клеточной линии HeLa.

ДЭГ в клеточной линии HeLa на фоне нокаута или сверхэкспрессии *ADAMTS1*

Нокаут и сверхэкспрессия гена *ADAMTS1* приводили к значимому снижению и повышению экспрессии гена *ADAMTS1* в клеточной линии HeLa соответственно (рис. 2,а), что технически верифицирует использованную модельную систему.

Полнотранскриптомный анализ профиля экспрессии генов в клеточной линии HeLa с нокаутом *ADAMTS1* выявил 57 ДЭГ (33 с повышенным и 24 с пониженным уровнем экспрессии, $p < 0.05$) в клетках до облучения и 103 ДЭГ (56 с повышенным и 47 с пониженным уровнем экспрессии, $p \leq 0.05$) после облучения в дозе 2 Гр. Некоторые ДЭГ были связаны с опухолевой резистентностью к γ -облучению и терапии таксолом (*GAGE7*) [31], с апоптозом (*GAGE7*, *POU3F2*) [31, 32], частотой и репарацией радиационно-индуцированных повреждений ДНК (*LXN*, *POU3F2* и *RUNX3*) [33–35], пролиферацией, миграцией и апоптозом опухолевых клеток (*ALPK2*) [35], защитой клеток от радиационно-индуцированной токсичности (*SEPP1*) [36].

После применения поправки на множественность сравнения число ДЭГ уменьшилось до 12 (7 с повышенным и 5 с пониженным уровнем экспрессии, $FDR \leq 0.05$) в клетках до облучения и 16 генов (9 с повышенным и 7 с пониженным

Таблица 2. Характеристика здоровых индивидов с различным уровнем фокусов белков репарации ДНК и частотой микроядер

| Доза | Признак | НФ | ВФ | <i>p</i> |
|------|---|----------------|---------------|----------|
| | Количество индивидов | 3 | 3 | |
| | Пол | Мужской | Мужской | |
| | Курильщики | 1 | 1 | |
| | Возраст, лет | 37 ± 14 | 36 ± 8 | |
| 0 Гр | γH2AX, фокус/клетку | 0.18 ± 0.02 | 0.49 ± 0.07 | 0.001* |
| | 53BP1, фокус/клетку | 0.24 ± 0.36 | 1.57 ± 0.7 | 0.042* |
| | Колокализация γH2AX и 53BP1, фокус/клетку | 0.03 ± 0.03 | 0.11 ± 0.08 | 0.167 |
| | Частота MnC–, ‰ | 2.83 ± 1.77 | 3.16 ± 1.35 | 0.808 |
| | Частота MnC+, ‰ | 2.16 ± 1.25 | 1.19 ± 0.36 | 0.269 |
| | Частота Mn, ‰ | 4.99 ± 3.01 | 4.36 ± 0.99 | 0.746 |
| 2 Гр | Частота MnC–, ‰ | 155.78 ± 47.19 | 78.44 ± 33.21 | 0.081 |
| | Частота MnC+, ‰ | 0.67 ± 1.15 | 5.11 ± 6.19 | 0.288 |
| | Частота Mn, ‰ | 156.44 ± 46.53 | 83.56 ± 29.52 | 0.083 |

Примечание. НФ – группа с низким уровнем фокусов, ВФ – группа с высоким уровнем фокусов, * $p < 0.05$.

Таблица 3. ДЭГ в лимфоцитах индивидов с различным уровнем фокусов γH2AX и частотой радиационно-индуцированных микроядер с учетом поправки на множественность сравнения

| Доза | ДЭГ | FC ВФ/НФ | <i>p</i> (FDR) |
|------|------------------------|-------------|----------------|
| 0 Гр | <i>ENST00000424415</i> | 24.1 | 0.003 |
| | <i>CRNDE</i> | 2.9 | 0.107 |
| | <i>ADAMTS1</i> | 3.3 | 0.114 |
| 2 Гр | <i>ENST00000424415</i> | 24.2 | 0.003 |
| | <i>CRNDE</i> | 2.9 | 0.052 |
| | <i>ADAMTS1</i> | 4.2 | 0.023 |
| | <i>ENST00000424084</i> | 0.4 | 0.005 |
| | <i>EIF2A</i> | 0.2 | 0.133 |
| | <i>PNPLA5</i> | 0.2 | 0.158 |
| | <i>FRG2C</i> | 0.3 | 0.158 |

Примечание. FC – кратность отличий в экспрессии генов в группе индивидов с высоким уровнем фокусов белков репарации ДНК, относительно группы с низким уровнем фокусов.

уровнем экспрессии, $FDR \leq 0.05$) в клетках после облучения (табл. 4). Экспрессия некоторых из этих генов (*ALPK2*, *LXN* и *SEPP1*) была выборочно верифицирована в клеточной линии HeLa с нокаутом *ADAMTS1* и оценена в клетках со сверхэкспрессией *ADAMTS1* с использованием ПЦР в реальном времени (рис. 2). Выявленные отличия в уровне экспрессии были подтверждены для генов *ALPK2* и *SEPP1* (рис. 2, б–г). Примечательно, что сверхэкспрессия *ADAMTS1* в клетках HeLa оказывала противоположный эффект на экспрессию гена *LXN*. Более того, восстановление экспрес-

сии *ADAMTS1* в клеточной линии HeLa с нокаутом *ADAMTS1* привело к увеличению экспрессии *LXN* как в необлученных, так и в облученных клетках (рис. 2, в).

Анализ обогащения с использованием инструмента DAVID Bioinformatics Resources не выявил статистически значимо обогащенных групп генов. Однако анализ предсказанных функциональных взаимодействий на уровне белков с помощью инструмента STRING позволил выявить статистически значимые взаимодействия между списками ДЭГ (57 генов до облучения и 103 гена после облу-

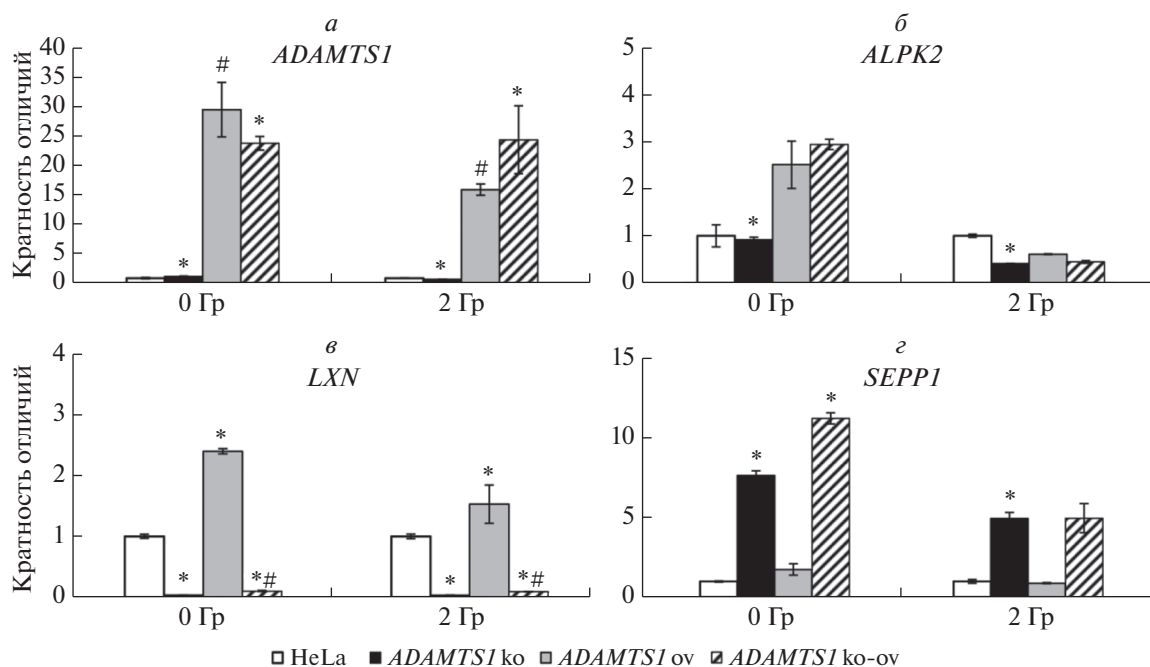


Рис. 2. Верификация экспрессии генов, выявленных с помощью полнотранскриптомного анализа в клеточной линии HeLa с нокаутом *ADAMTS1* методом ПЦР в реальном времени. Экспрессия генов *ADAMTS1* (а), *ALPK2* (б), *LFN* (в), *SEPP1* (г) в клеточной линии HeLa на фоне нокаута и сверхэкспрессии *ADAMTS1*. *ADAMTS1 ko* – клеточная линия HeLa с нокаутом *ADAMTS1*, *ADAMTS1 ov* – клеточная линия HeLa со сверхэкспрессией *ADAMTS1*, *ADAMTS1 ko-ov* – клеточная линия HeLa с нокаутом гена *ADAMTS1* после трансфекции плазмидой *ADAMTS1_pCSdest*. * – статистически значимые различия по сравнению с интактной клеточной линией HeLa; # – статистически значимые различия по сравнению с клеточной линией HeLa с нокаутом *ADAMTS1* ($p < 0.05$).

чения), выявленных в клеточной линии HeLa с нокаутом *ADAMTS1*, и наборами генов сигнального пути апоптоза, индуцированного внутриклеточными (GO: 0072332, 75 генов) и внеклеточными (GO: 0097191, 217 генов) сигналами, представленными в базе данных Molecular Signatures Database. Было показано, что 7 из 57 ДЭГ до облучения и 6 из 103 ДЭГ после облучения имеют функциональные взаимодействия с генами, участвующими в сигнальном пути апоптоза, индуцированном внутриклеточными сигналами (табл. 5). Другая часть генов (12 из 57 ДЭГ до облучения и 8 из 103 ДЭГ после радиационного воздействия) имела функциональные взаимодействия на уровне белков с генами, вовлеченными в сигнальный путь апоптоза, индуцируемый внеклеточными молекулярными сигналами (табл. 5).

Более того, ДЭГ, идентифицированные в клеточной линии HeLa с нокаутом *ADAMTS1*, по-видимому, имеют функциональные белковые взаимодействия с генами, вовлеченными в репарацию двухцепочечных разрывов ДНК (GO: 0006302, 268 генов), переход клеточного цикла из стадии G₂ в M (GO: 0044839, 276 генов) и сигнальный путь TGFβ (KEGG M2642, 86 генов) (табл. 5).

Поскольку было обнаружено, что *ADAMTS1* дифференциально экспрессируется в МПК индивидов с различным уровнем эндогенных фокусов γH2AX и радиационно-индуцированных микроядер, был проведен анализ с целью выявления общих ДЭГ в МПК здоровых индивидов и в клеточной линии HeLa с нокаутом *ADAMTS1*. Однако сравнение списков ДЭГ не выявило каких-либо генов, общих для этих групп.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании были проанализированы полнотранскриптомные профили экспрессии генов в МПК здоровых индивидов с различным уровнем эндогенных фокусов γH2AX и частотой радиационно-индуцированных микроядер до облучения и после воздействия γ-излучением. Было показано, что у индивидов с высоким уровнем фокусов белков репарации двунитевых разрывов ДНК наблюдалась повышенная экспрессия генов *ENST00000424415*, *CRNDE* и *ADAMTS1* как до облучения, так и в облученных мононуклеарах периферической крови.

Функциональная связь выявленных дифференциально-экспрессирующихся генов с процес-

Таблица 4. ДЭГ в клеточной линии HeLa с нокаутом гена *ADAMTS1*

| Доза | ДЭГ | FC | <i>p</i> (FDR) |
|----------------|--------------------------|-------|----------------|
| 0 Гр | ↑ <i>PAGE1</i> | 22.5 | 0.008 |
| | ↑ <i>FGF13</i> | 20.1 | 6.82E-07 |
| | ↑ <i>SEPP1</i> | 5.8 | 0.004 |
| | ↑ <i>MDF1</i> | 3.8 | 0.028 |
| | ↑ <i>BCHE</i> | 2.6 | 3.93E-05 |
| | ↑ <i>TUSC3</i> | 2.24 | 0.001 |
| | ↑ <i>POPDC3</i> | 1.9 | 0.001 |
| | ↓ <i>DLG5</i> | 2.0 | 0.027 |
| | ↓ <i>ENST00000549261</i> | 2.0 | 0.001 |
| | ↓ <i>GAGE7</i> | 3.8 | 2.40E-06 |
| | ↓ <i>POU3F2</i> | 5.8 | 0.028 |
| ↓ <i>LXN</i> | 14.2 | 0.004 | |
| 2 Гр | ↑ <i>FGF13</i> | 21.1 | 5.27E-07 |
| | ↑ <i>PAGE1</i> | 20.5 | 0.011 |
| | ↑ <i>MDF1</i> | 4.6 | 0.009 |
| | ↑ <i>SEPP1</i> | 4.2 | 0.027 |
| | ↑ <i>SULT4A1</i> | 4.0 | 0.011 |
| | ↑ <i>SMIM3</i> | 2.7 | 0.057 |
| | ↑ <i>BCHE</i> | 2.2 | 0.001 |
| | ↑ <i>TUSC3</i> | 2.1 | 0.002 |
| | ↑ <i>POPDC3</i> | 1.54 | 0.053 |
| | ↓ <i>DLG5</i> | 2.0 | 0.023 |
| | ↓ <i>ENST00000549261</i> | 2.3 | 5.00E-05 |
| | ↓ <i>OLFML1</i> | 2.6 | 0.022 |
| | ↓ <i>GAGE7</i> | 4.5 | 0.005 |
| | ↓ <i>POU3F2</i> | 6.7 | 0.011 |
| | ↓ <i>LXN</i> | 17.3 | 0.002 |
| ↓ <i>ALPK2</i> | 2.3 | 0.093 | |

Примечание. FC – кратность отличий в экспрессии генов относительно исходной клеточной линии HeLa. ↑ – возрастание экспрессии, ↓ – снижение экспрессии.

сами репарации ДНК не описана в литературе и может быть связана с их участием в различных сигнальных путях. Повышенная экспрессия гена длинной некодирующей РНК, *CRNDE*, наблюдалась при многих типах солидных опухолей и при лейкемии [37–40]. Кроме того, с данным геном связывают устойчивость опухолевых клеток к 5-фторурацилу [41] и паклитакселу [42]. Повышенная экс-

прессия *CRNDE* в клетках лиц с высоким уровнем спонтанных фокусов γ H2AX, наблюдаемая в настоящем исследовании, может быть связана с активацией Wnt/ β -катенина или инсулин/IGF-зависимой передачи сигналов, что способствует активации апоптоза, устранению поврежденных клеток и снижению частоты микроядер [41, 43]. Данные о возможной функции длинной некодирующей РНК ENST00000424415 отсутствуют.

ADAMTS1 представляет собой ген, кодирующий металлопротеиназу внеклеточного матрикса, имеющую мембранную локализацию. В настоящем исследовании установлено, что экспрессия гена *ADAMTS1* снижена в лимфоцитах лиц с низким уровнем эндогенных фокусов γ H2AX и высокой частотой радиационно-индуцированных микроядер. В недавнем биоинформатическом анализе *ADAMTS1* был идентифицирован как ключевой ген в развитии опухолей молочной железы [44]. По-видимому, *ADAMTS1* может активировать TGF β во внеклеточном матриксе, расщепляя его неактивную форму. Это особенно важно, учитывая, что TGF β является важным компонентом клеточного ответа на повреждение ДНК, за счет регуляции киназной активности АТМ. Известно, что нокаут TGF β в мышечных клетках или ингибирование передачи сигналов TGF β в клетках человека снижает активность АТМ и аутофосфорилирование этой киназы, приводя к деактивации контрольных точек клеточного цикла и повышенной радиочувствительности клеток. Следовательно, высокая частота радиационно-индуцированных микроядер в лимфоцитах индивидов с низким уровнем экспрессии *ADAMTS1* может быть связана с ингибированием передачи сигналов TGF β , что в свою очередь повышает радиочувствительность клеток [45–47].

Учитывая отсутствие в литературе данных об участии выявленных дифференциально-экспрессирующихся генов в ответе клеток на повреждение ДНК, был проведен анализ влияния нокаута гена *ADAMTS1* на транскрипционный профиль в модельной клеточной линии. Было показано, что нокаут *ADAMTS1* приводит к дифференциальной экспрессии ряда генов, некоторые из которых функционально связаны с апоптозом, репарацией двуниевых разрывов ДНК, переходом клеточного цикла из стадии G₂ в M и в сигнальном пути TGF β . Эта гипотеза согласуется с нашими предыдущими результатами. Ранее нами сообщалось, что нокаут *ADAMTS1* в клеточной линии HeLa приводил к 1.9-кратному снижению клональной выживаемости после облучения в дозе 2 Гр и повышению частоты радиационно-индуцированных микроядер с 36.0 ± 7.2 до $55.3 \pm 8.3\%$ ($p < 0.05$) по сравнению с контрольной линией клеток HeLa.

Таблица 5. ДЭГ, идентифицированные в клеточной линии HeLa с нокаутом *ADAMTS1*, вовлеченные в сигнальные пути апоптоза, репарации двуниевых разрывов ДНК, перехода клеточного цикла из G₂ в M и сигнальный путь TGFβ

| Доза | Сигнальные пути апоптоза (GO: 0072332; 0097191) | Репарация двухцепочечных разрывов ДНК (GO: 0006302) | G ₂ /M переход клеточного цикла (GO: 0044839) | Сигнальный путь TGFβ (KEGG M2642) |
|------|--|--|---|---|
| 0 Гр | <i>HBS1L, RPL21, PRICKLE1, COPS7A, MYLIP, SQSTM1, HLA-DPA1, FGF13, IL11, ESR2, COL18A1, STK3, POT1, NKX2-1</i> | <i>HLA-DPA1, POT1, PRICKLE1, MYLIP, COPS7A</i> | <i>CDK14, COPS7A, PRICKLE1, MYLIP, POT1, RPL21, HBS1L, ESR2, HLA-DPA1, OPTN, SQSTM1</i> | <i>PRICKLE1, SQSTM1, RPL21, COPS7A, ESR2, MYLIP</i> |
| 2 Гр | <i>RFC3, MSH2, MSH6, ARID3A, HLA-DPA1, COL18A1, FGF13, IER3, NMU, TRPV2, SPON2, PRICKLE1</i> | <i>HLA-DPA1, PRICKLE1, SETD2, ARID3A, MSH2, MSH6, RFC3</i> | <i>RAP2C, HLA-DPA1, COG5, CDK14, MSH6, RFC3, PRICKLE1, ARID3A, NMU, IER3</i> | <i>PRICKLE1, SRGAP2, IER3, RFC3, SPON2</i> |

Более того, мы также обнаружили, что трансфекция плазмиды *ADAMTS1_pCSdest* в клеточную линию HeLa с нокаутом гена *ADAMTS1* приводила к снижению частоты радиационно-индуцированных микроядер с 55.3 ± 8.3 до $28.7 \pm 10.3\%$ ($p < 0.05$), что сопоставимо с частотой микроядер в контрольной клеточной линии HeLa после облучения ($36.0 \pm 7.2\%$) [27]. Таким образом, нарушение экспрессии гена *ADAMTS1* связано с нарушением транскрипционного профиля генов, связанных с ответом на повреждение ДНК и регуляцией процесса апоптоза.

Полученные результаты указывают на то, что различный уровень спонтанных и радиационно-индуцированных повреждений ДНК в клетках разных индивидов ассоциирован с дифференциальной экспрессией отдельных генов в необлученных клетках, включая ген *ADAMTS1*. Поэтому анализ экспрессии гена *ADAMTS1* может быть интересен с точки зрения использования в качестве маркера индивидуальной радиочувствительности человека. Показанное ранее влияние нокаута *ADAMTS1* на выживаемость клеток и выявленное в настоящей работе изменение транскрипционного профиля генов, участвующих в регуляции апоптоза, указывают на необходимость изучения роли *ADAMTS1* в радиационно-индуцированном ответе клеток и возможности его использования в качестве мишени противоопухолевой терапии.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов № 14-04-31867 (эксперименты, выполненные на

МПК здоровых индивидов) и 19-34-90143 (эксперименты, выполненные на клеточных линиях).

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sokolov M., Neumann R. Global gene expression alterations as a crucial constituent of human cell response to low doses of ionizing radiation exposure // Int. J. Mol. Sci. 2015. V. 17. № 1. P. 55. <https://doi.org/10.3390/ijms17010055>
2. Foray N., Bourguignon M., Hamada N. Individual response to ionizing radiation // Mutat. Res. – Rev. Mutat. Res. 2016. V. 770. P. 369–386. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2016.09.001>
3. Rajaraman P., Hauptmann M., Bouffler S., Wojcik A. Human individual radiation sensitivity and prospects for prediction // Ann. ICRP. 2018. V. 47. № 3–4. P. 126–141. <https://doi.org/10.1177/0146645318764091>
4. Andreassen C.N., Schack L.M.H., Laursen L.V., Alsner J. Radiogenomics – current status, challenges and future directions // Cancer Lett. 2016. V. 382. № 1. P. 127–

136.
<https://doi.org/10.1016/j.canlet.2016.01.035>
5. Wang T.M., Shen G.P., Chen M.Y. et al. Genome-wide association study of susceptibility loci for radiation-induced brain injury // *J. Natl Cancer Inst.* 2019. V. 111. № 6. P. 620–628.
<https://doi.org/10.1093/jnci/djy150>
 6. Yang D.W., Wang T.M., Zhang J.B. et al. Genome-wide association study identifies genetic susceptibility loci and pathways of radiation-induced acute oral mucositis // *J. Transl. Med.* 2020. V. 18. № 1. P. 1–12.
<https://doi.org/10.1186/s12967-020-02390-0>
 7. Zheng S., Tao W. Identification of novel transcriptome signature as a potential prognostic biomarker for anti-angiogenic therapy in glioblastoma multiforme // *Cancers.* 2021. V. 13. № 5. P. 1013.
<https://doi.org/10.3390/cancers13051013>
 8. Bhosle S.M., Huilgol N.G., Mishra K.P. Apoptotic index as predictive marker for radiosensitivity of cervical carcinoma: Evaluation of membrane fluidity, biochemical parameters and apoptosis after the first dose of fractionated radiotherapy to patients // *Cancer Detect. Prev.* 2005. V. 29. № 4. P. 369–375.
<https://doi.org/10.1016/j.cdp.2005.05.002>
 9. Azria D., Riou O., Castan F. et al. Radiation-induced CD8 T-lymphocyte apoptosis as a predictor of breast fibrosis after radiotherapy: Results of the prospective multicenter French Trial // *EBioMedicine.* 2015. V. 2. № 13. P. 1965–1973.
<https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2015.10.024>
 10. Anderson R.M. Cytogenetic biomarkers of radiation exposure // *Clin. Oncol.* 2019. V. 31. № 5. P. 311–318.
<https://doi.org/10.1016/j.clon.2019.02.009>
 11. Bucher M., Endesfelder D., Roessler U. et al. Analysis of chromosomal aberrations and γ H2A.X foci to identify radiation-sensitive ataxia-telangiectasia patients // *Mutat. Res. – Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* 2021. V. 861. P. 503301.
<https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2020.503301>
 12. Guogytė K., Plieskienė A., Ladygienė R. et al. Assessment of correlation between chromosomal radiosensitivity of peripheral blood lymphocytes after *in vitro* irradiation and normal tissue side effects for cancer patients undergoing radiotherapy // *Genome Integr.* 2017. V. 8. P. 1.
<https://doi.org/10.4103/2041-9414.198907>
 13. Redon C.E., Dickey J.S., Bonner W.M., Sedelnikova O.A. γ -H2AX as a biomarker of DNA damage induced by ionizing radiation in human peripheral blood lymphocytes and artificial skin // *Adv. Space Res.* 2009. V. 43. № 8. P. 1171–1178.
<https://doi.org/10.1016/j.asr.2008.10.011>
 14. Markova E., Vasilyev S., Belyaev I. 53BP1 foci as a marker of tumor cell radiosensitivity // *Neoplasma.* 2015. V. 62. № 5. P. 770–776.
https://doi.org/10.4149/neo_2015_092
 15. Belyaev I.Y. Radiation-induced DNA repair foci: Spatio-temporal aspects of formation, application for assessment of radio-sensitivity and biological dosimetry // *Mutat. Res. – Rev. Mutat. Res.* 2010. V. 704. № 1–3. P. 132–141.
<https://doi.org/10.1016/j.mrrrev.2010.01.011>
 16. Sedelnikova O.A., Horikawa I., Zimonjic D.B. et al. Senescing human cells and ageing mice accumulate DNA lesions with unreparable double-strand breaks // *Nat. Cell Biol.* 2004. V. 6. № 2. P. 168–170.
<https://doi.org/10.1038/ncb1095>
 17. Han J., Hendzel M.J., Allalunis-Turner J. Quantitative analysis reveals asynchronous and more than DSB-associated histone H2AX phosphorylation after exposure to ionizing radiation // *Radiat. Res.* 2006. V. 165. № 3. P. 283–292.
<https://doi.org/10.1667/rr3516.1>
 18. Kato T.A., Okayasu R., Bedford J.S. Comparison of the induction and disappearance of DNA double strand breaks and γ -H2AX foci after irradiation of chromosomes in G1-phase or in condensed metaphase cells // *Mutat. Res. – Fundam. Mol. Mech. Mutagen.* 2008. V. 639. № 1–2. P. 108–112.
<https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2007.11.006>
 19. Nakamura A.J., Redon C.E., Bonner W.M., Sedelnikova O.A. Telomere-dependent and telomere-independent origins of endogenous DNA damage in tumor cells // *Aging.* 2009. V. 1. P. 212–218.
<https://doi.org/10.18632/aging.100019>
 20. Fumagalli M., Rossiello F., Clerici M. et al. Telomeric DNA damage is irreparable and causes persistent DNA-damage-response activation // *Nat. Cell Biol.* 2012. V. 14. № 4. P. 355–365.
<https://doi.org/10.1038/ncb2466>
 21. Bernadotte A., Mikhelson V.M., Spivak I.M. Markers of cellular senescence. Telomere shortening as a marker of cellular senescence // *Aging.* 2016. V. 8. № 1. P. 3–11.
<https://doi.org/10.18632/aging.100871>
 22. Georgoulis A., Vorgias C.E., Chrousos G.P., Rogakou E.P. Genome instability and γ H2AX // *Int. J. Mol. Sci.* 2017. № 9. V. 18. P. 1979–1989.
<https://doi.org/10.3390/ijms18091979>
 23. Васильев С.А., Величевская А.И., Вишневецкая Т.В. и др. Фоновое количество фокусов γ H2AX в клетках человека как фактор индивидуальной радиочувствительности // *Радиационная биология и радиоэкология.* 2015. Т. 55. № 4. С. 402–410.
<https://doi.org/10.7868/S0869803115040128>
 24. Martin O.A., Ivashkevich A., Choo S. et al. Statistical analysis of kinetics, distribution and co-localisation of DNA repair foci in irradiated cells: Cell cycle effect and implications for prediction of radiosensitivity // *DNA Repair.* 2013. V. 12. № 10. P. 844–855.
<https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2013.07.002>
 25. Muller S., Neusser M., Kohler D., Cremer M. Preparation of complex DNA probe sets for 3D FISH with up to six different fluorochromes // *Cold Spring Harb. Protoc.* 2007. V. 2007. № 5. P. pdb.prot4730.
<https://doi.org/10.1101/pdb.prot4730>
 26. Мельников А.А., Васильев С.А., Мусабаева Л.И. и др. Индикация цитогенетических нарушений в лим-

- фоцитах периферической крови больных злокачественными новообразованиями при лечении быстрыми нейтронами // Тюменский мед. журн. 2012. № 4. С. 76–78.
27. *Savchenko R.R., Murashkina A.A., Fishman V.S. et al.* Effect of *ADAMTS1* differential expression on the radiation-induced response of HeLa cell line // *Rus. J. Genet.* 2021. V. 57. № 7. P. 856–862. <https://doi.org/10.1134/S1022795421070127>
 28. *Edie S., Zaghloul N.A., Leitch C.C. et al.* Survey of human chromosome 21 gene expression effects on early development in *Danio rerio* // *G3 (Bethesda, Md.)*. 2018. V. 8. № 7. P. 2215–2223. <https://doi.org/10.1534/g3.118.200144>
 29. GEO accession viewer. Available online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE97000> (accessed on 19 May 2021).
 30. *Tilton S.C., Markillie L.M., Hays S. et al.* Identification of differential gene expression patterns after acute exposure to high and low doses of low-LET ionizing radiation in a reconstituted human skin tissue // *Radiat. Res.* 2016. V. 186. № 5. P. 531–538. <https://doi.org/10.1667/rr14471.1>
 31. *Cilensek Z.M., Yehiely F., Kular R.K., Deiss L.P.* A member of the GAGE family of tumor antigens is an anti-apoptotic gene that confers resistance to Fas/CD95/APO-1, interferon-gamma, taxol and gamma-irradiation // *Cancer Biol. Ther.* 2002. V. 1. № 4. P. 379–386. <https://doi.org/10.4161/cbt.1.4.11>
 32. *Herbert K., Binet R., Lambert J.P. et al.* BRN2 suppresses apoptosis, reprograms DNA damage repair, and is associated with a high somatic mutation burden in melanoma // *Genes Dev.* 2019. V. 33. № 5–6. P. 310–332. <https://doi.org/10.1101/gad.314633.118>
 33. *You Y., Wen R., Pathak R. et al.* Latexin sensitizes leukemogenic cells to gamma-irradiation-induced cell-cycle arrest and cell death through Rps3 pathway // *Cell Death Dis.* 2014. V. 5. № 10. e1493. <https://doi.org/10.1038/cddis.2014.443>
 34. *Tanaka Y., Imamura J., Kanai F. et al.* Runx3 interacts with DNA repair protein Ku70 // *Exp. Cell Res.* 2007. V. 313. № 15. P. 3251–3260. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2007.06.012>
 35. *Jiang J., Han P., Qian J. et al.* Knockdown of *ALPK2* blocks development and progression of renal cell carcinoma // *Exp. Cell Res.* 2020. V. 392. № 2. P. 112029. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2020.112029>
 36. *Eckers J.C., Kalen A.L., Xiao W. et al.* Selenoprotein P inhibits radiation-induced late reactive oxygen species accumulation and normal cell injury // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2013. V. 87. № 3. P. 619–625. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2013.06.2063>
 37. *Graham L.D., Pedersen S.K., Brown G.S. et al.* Colorectal neoplasia differentially expressed (CRNDE), a novel gene with elevated expression in colorectal adenomas and adenocarcinomas // *Genes Cancer.* 2011. V. 2. № 8. P. 829–840. <https://doi.org/10.1177/1947601911431081>
 38. *Ellis B.C., Molloy P.L., Graham L.D.* CRNDE: A long non-coding RNA involved in CanceR, neurobiology, and development // *Front. Genet.* 2012. V. 3. P. 270. <https://doi.org/10.3389/fgene.2012.00270>
 39. *Zhang X., Sun S., Pu J.K.S. et al.* Long non-coding RNA expression profiles predict clinical phenotypes in glioma // *Neurobiol. Dis.* 2012. V. 48. № 1. P. 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2012.06.004>
 40. *Szafron L.M., Balcerak A., Grzybowska E.A. et al.* The novel gene CRNDE encodes a nuclear peptide (CRNDEP) which is overexpressed in highly proliferating tissues // *PLoS One.* 2015. V. 10. № 5. P. e0127475. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127475>
 41. *Han P., Li J.W., Zhang B.M. et al.* The lncRNA CRNDE promotes colorectal cancer cell proliferation and chemoresistance via miR-181a-5p-mediated regulation of Wnt/ β -catenin signaling // *Mol. Cancer.* 2017. V. 16. № 1. P. 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12943-017-0583-1>
 42. *Liu C., Hou J., Shan F. et al.* Long non-coding RNA CRNDE promotes colorectal carcinoma cell progression and paclitaxel resistance by regulating miR-126-5p/ATAD2 axis // *OncoTargets Ther.* 2020. V. 13. P. 4931–4942. <https://doi.org/10.2147/OTT.S237580>
 43. *Ellis B.C., Graham L.D., Molloy P.L.* CRNDE, a long non-coding RNA responsive to insulin/IGF signaling, regulates genes involved in central metabolism // *Biochim. Biophys. Acta (BBA) – Mol. Cell Res.* 2014. V. 1843. № 2. P. 372–386. <https://doi.org/10.1016/j.bbamer.2013.10.016>
 44. *Wu D., Han B., Guo L., Fan Z.* Molecular mechanisms associated with breast cancer based on integrated gene expression profiling by bioinformatics analysis // *J. Obstet. Gynaecol.* 2016. V. 36. № 5. P. 615–621. <https://doi.org/10.3109/01443615.2015.1127902>
 45. *Ewan K.B., Henshall-Powell R.L., Ravani S.A. et al.* Transforming growth factor-B1 mediates cellular response to DNA damage *in situ* // *Cancer Res.* 2002. V. 62. № 20. P. 5627–5631.
 46. *Kirshner J., Jobling M.F., Pajares M.J. et al.* Inhibition of transforming growth factor- β 1 signaling attenuates ataxia telangiectasia mutated activity in response to genotoxic stress // *Cancer Res.* 2006. V. 66. № 22. P. 10861–10869. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-06-2565>
 47. *Wiegman E.M., Blaese M.A., Loeffler H. et al.* TGF β -1 dependent fast stimulation of ATM and p53 phosphorylation following exposure to ionizing radiation does not involve TGF β -receptor I signaling // *Radiother. Oncol.* 2007. V. 83. № 3. P. 289–295. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2007.05.013>

***ADAMTS1* Is Differentially Expressed in Human Lymphocytes with Various Frequencies of Endogenous γ H2AX Foci and Radiation-Induced Micronuclei**

S. A. Vasilyev^{a, *}, R. R. Savchenko^a, A. A. Belenko^a, N. A. Skryabin^a, A. A. Sleptsov^a, V. S. Fishman^b, A. A. Murashkina^c, O. V. Gribova^d, Z. A. Startseva^d, E. S. Sukhikh^{e, f}, A. V. Vertinskiy^{e, f}, L. G. Sukhikh^f, O. L. Serov^b, and I. N. Lebedev^a

^aResearch Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, 634050 Russia

^bFederal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia

^cNational Research Tomsk State University, Tomsk, 634050 Russia

^dCancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, 634009 Russia

^eTomsk Regional Oncology Center, Tomsk, 634063 Russia

^fNational Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, 634050 Russia

*e-mail: stanislav.vasilyev@medgenetics.ru

The level of spontaneous and radiation-induced DNA damage varies depending on genetic and environmental factors in human somatic cells. This variation may be associated with transcriptional changes in cells, allowing the use of gene expression levels as markers of individual sensitivity to mutagenic effects. This study aimed to identify and characterize differentially expressed genes (DEGs) in lymphocytes of individuals with various frequencies of endogenous γ H2AX foci and radiation-induced micronuclei ($n = 37$). The low-focus group was characterized by 0.18 ± 0.02 endogenous γ H2AX foci per cell and a $155.78 \pm 47.19\%$ radiation-induced micronucleus frequency. The high-focus group was characterized by 0.49 ± 0.07 foci/cell and a $78.44 \pm 33.21\%$ micronucleus frequency. Seven DEGs (*ENST00000424415*, *CRNDE*, *ADAMTS1*, *ENST00000424084*, *EIF2A*, *PNPLA5* and *FRG2C*) (FDR < 0.2) were identified by gene expression analysis with microarrays. As the extracellular matrix metalloproteinase ADAMTS1 is able to activate the latent form of TGF β and TGF β is involved in radiation-induced cellular response, the effects of *ADAMTS1* knockout and overexpression on the gene expression profile were further validated in adherent HeLa cells. Twenty-nine of 160 identified DEGs are involved in apoptosis, DNA DSBs repair, G2/M cell cycle transition, and the TGF β signalling pathway. Thus, ADAMTS1 may be useful as a potential target for antitumour therapy.

Keywords: radiosensitivity, gamma-H2AX, micronuclei, gamma-rays, gene expression profiling, *ADAMTS1*, biomarkers.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПОДВЕРЖЕННОСТИ КОМОРБИДНОСТИ
СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОГО КОНТИНУУМА© 2022 г. И. А. Гончарова^{1, *}, Ю. А. Королева¹, А. А. Слепцов¹, Т. В. Печерина², В. В. Кашталап²,
В. П. Пузырев^{1, 3}, М. С. Назаренко^{1, 3}¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики Томского национального исследовательского
медицинского центра Российской академии наук, Томск, 634050 Россия² Научно-исследовательский институт комплексных проблем
сердечно-сосудистых заболеваний, Кемерово, 650002 Россия³ Сибирский государственный медицинский университет, Томск, 634050 Россия

*e-mail: irina.goncharova@medgenetics.ru

Поступила в редакцию 04.04.2022 г.

После доработки 06.05.2022 г.

Принята к публикации 12.05.2022 г.

Проанализирована генетическая структура подверженности коморбидности сердечно-сосудистого континуума (ССК) и оценена функциональная значимость генетических вариантов, ассоциированных с патологией. Показано, что с заболеваниями ССК ассоциированы rs1333049 (*CDKN2B-AS1*), rs3739998 (*KIAA1462*), rs3765124 (*ADAMDEC1*), rs1007856 (*ITGB5*), формирующие генетическую структуру подверженности к ИБС, осложненной ИМ независимо от наличия/отсутствия факторов риска. Генетические варианты rs626750 (*MMP3/MMP12*), rs1991401 (*DDX5*), rs2878771 (*AQP2*) и rs2277698 (*TIMP2*) связаны с ишемической болезнью сердца ИБС и ИМ в зависимости от наличия факторов риска (АГ, ГХ и СД2). С ИМ без сопутствующих патологий ассоциированы rs3739998 (*KIAA1462*), rs1991401 (*DDX5*), rs2878771 (*AQP2*); с ИМ + АГ – rs1333049 (*CDKN2B-AS1*), rs3765124 (*ADAMDEC1*), rs1007856 (*ITGB5*); с ИМ + АГ + ГХ – rs1333049 (*CDKN2B-AS1*), rs3765124 (*ADAMDEC1*), rs1007856 (*ITGB5*), rs626750 (*MMP3/MMP12*); с “синтропией ССК” – rs3739998 (*KIAA1462*), rs2277698 (*TIMP2*). Все SNPs, ассоциированные с заболеваниями ССК, являются cis-eQTL-локусами и влияют на экспрессию генов в тканях органов-мишеней ССК или изменяют аффинность транскрипционных факторов в результате потери или появления сайтов их связывания.

Ключевые слова: ИБС, инфаркт миокарда, коморбидность сердечно-сосудистого континуума, полиморфизм, rSNPs, eQTL.

DOI: 10.31857/S0016675822100034

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) и ее осложнение в виде инфаркта миокарда (ИМ) входят в состав заболеваний сердечно-сосудистого континуума (ССК), основными пусковыми механизмами которого являются гиперхолестеринемия (ГХ), артериальная гипертензия (АГ) и сахарный диабет второго типа (СД2) [1]. Между патологическими состояниями, входящими в сердечно-сосудистый континуум, имеется тесная связь, что подтверждается клинически их высокой частотой одновременной встречаемости.

Болезни ССК представляют собой многофакторные заболевания с существенной генетической компонентой. В своей основе они имеют сложную генетическую структуру с разнообразными по частоте и эффектам комбинациями аллелей. Учитывая, что заболевания ССК тесно связаны друг с другом с эпидемиологической и патофизиологиче-

ской точек зрения, можно предположить, что их генетическая составляющая имеет много общего.

Широкогеномные исследования ассоциаций (GWAS) идентифицировали сотни однонуклеотидных вариантов (SNPs), ассоциированных с риском ИБС, уровнем артериального давления или АГ, уровнями липидов в сыворотке крови или ГХ, уровнем глюкозы в сыворотке крови или СД2, индексом массы тела или ожирением [2]. Однако работы, в которых проводится поиск общих для болезней ССК генетических вариантов/генов/регионов хромосом, немногочисленны. Часть из них основана на обобщении результатов GWAS в отношении отдельных заболеваний ССК в разных выборках [3–8]. Вместе с тем, механизмы, с помощью которых ассоциированные гены способствуют увеличению риска развития заболевания, в большей степени неизвестны [9].

В работах нашего исследовательского коллектива ранее с использованием широкого спектра SNPs и различных методических подходов проведена оценка особенностей генетической компоненты, лежащей в основе развития коморбидности ССК. Было установлено, что генетическая компонента подверженности различна для ИБС, сочетания ИБС + АГ, а также ИБС + АГ + ГХ + СД2 [10], а полиморфизм генов, белковые продукты которых участвуют в процессах фиброгенеза, маркирует различия генетической компоненты между ИБС с ИМ без дополнительных факторов риска и ИБС с ИМ и сопутствующими АГ, ГХ и СД2 [11]. Однако данные исследования имеют ряд ограничений, включая небольшие по объему выборки.

Особенностью настоящего исследования является расширение группы больных с ИБС, осложненной ИМ и различным сочетанием сопутствующих факторов риска, которые обуславливают большую тяжесть заболевания. Кроме того, важным моментом в изучении заболеваний ССК является оценка функциональной значимости генетических вариантов с привлечением широкого спектра баз данных, которая ранее была оценена лишь частично [12].

Таким образом, цель настоящего исследования заключалась в анализе генетической структуры подверженности коморбидным состояниям у пациентов с различными сочетаниями заболеваний ССК с последующей оценкой *in silico* функциональной значимости вариантов, ассоциированных с патологией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены пациенты с ИБС и ИМ ($n = 539$), госпитализированные с острым коронарным синдромом (ОКС) или для проведения аортокоронарного шунтирования в НИИ КПССЗ (г. Кемерово). Длительность ИБС в среднем составила 5.4 ± 7.0 лет. Средний возраст больных соответствовал 59.5 ± 9.1 годам. Соотношение мужчин и женщин 2.99 (404/135). Среди пациентов артериальная гипертензия регистрировалась у 410 (76.1%), гиперхолестеринемия у 224 (41.5%), ожирение у 174 (32.3%), сахарный диабет второго типа у 135 (25.0%).

Для изучения генетической структуры коморбидности сердечно-сосудистого континуума из общей группы пациентов были сформированы следующие подгруппы: больные с ИМ, но без сопутствующих АГ, ГХ и СД2 (подгруппа обозначена как ИМ, $n = 95$); с АГ, но без ГХ и СД2 (подгруппа обозначена как ИМ + АГ, $n = 154$); с АГ и ГХ, но без СД2 (подгруппа обозначена как ИМ + АГ + ГХ, $n = 115$); с АГ, ГХ и СД2 (подгруппа обозначена как “синтропия ССК”, $n = 90$). В анализ генетиче-

ской структуры коморбидности из общей группы не вошли 85 человек: больные с СД2, но без других изученных сопутствующих заболеваний; с ГХ, но без других сопутствующих заболеваний; не известно наличие АГ или ГХ.

В качестве группы сравнения использовалась популяционная выборка жителей Сибирского региона ($n = 286$), средний возраст которых соответствовал 56.7 ± 10.1 годам. Соотношение мужчин и женщин в группе составило 1.26 (160/126). По этнической принадлежности все обследованные индивиды русские. Национальная принадлежность устанавливалась на основании результатов анкетирования. Формирование выборки выполнено с использованием материала биобанка НИИ медицинской генетики.

Генотипирование 58 SNPs выполнялось с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии на системе приборов Sequenom Mass ARRAY (Sequenom, США). Характеристика используемой панели генетических вариантов приведена в статье [13]. В панель для генотипирования был включен маркер *CDKN2B-AS1* (rs1333049), ранее показавший ассоциацию с “синтропией ССК” в наших исследованиях с использованием микрочипов Illumina Custom Genotyping Microarrays Select HD (Illumina, США) [10]. Прочтение генотипов *CDKN2B-AS1* (rs1333049) в вышеприведенном исследовании было выполнено с обратной цепи, тогда как в настоящем исследовании – с прямой.

Статистический анализ данных проведен в программной среде R. Анализ различий по качественным признакам (пол, наличие сопутствующих патологий), а также частот аллелей и генотипов выполняли при помощи критерия χ^2 с поправкой на множественность сравнений методом перестановок (permutation test). Для сравнения средних величин между группами использовали тест Манна–Уитни. Статистические гипотезы проверяли на 5%-ном уровне значимости.

Анализ функционального эффекта генетических вариантов, которые приводят к аминокислотной замене в структуре белка, выполнен с помощью онлайн инструментов геномного браузера Ensembl (<https://www.ensembl.org/index.html>) и программы Glycosylation Predictor (<https://comp.chem.nottingham.ac.uk/glyco/>). Регуляторный потенциал SNPs проанализирован с помощью онлайн сервисов HaploReg v4.1 (<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>) и RegulomeDB v2.0 (<https://regulomedb.org/regulome-search/>). Связь полиморфизма с количественными изменениями в профиле экспрессии генов (eQTL) оценен с помощью данных проектов Genotype-Tissue Expression (GTEx Portal; <http://www.gtexportal.org/>), NESDA NTR Conditionale QTL Catalog (<https://eqtl.onderzoek.io/index.php?page=info>), FIVEx (<https://fivex.sph.umich.edu/>), POLYMPACT ([ГЕНЕТИКА том 58 № 10 2022](https://bc-</p></div><div data-bbox=)

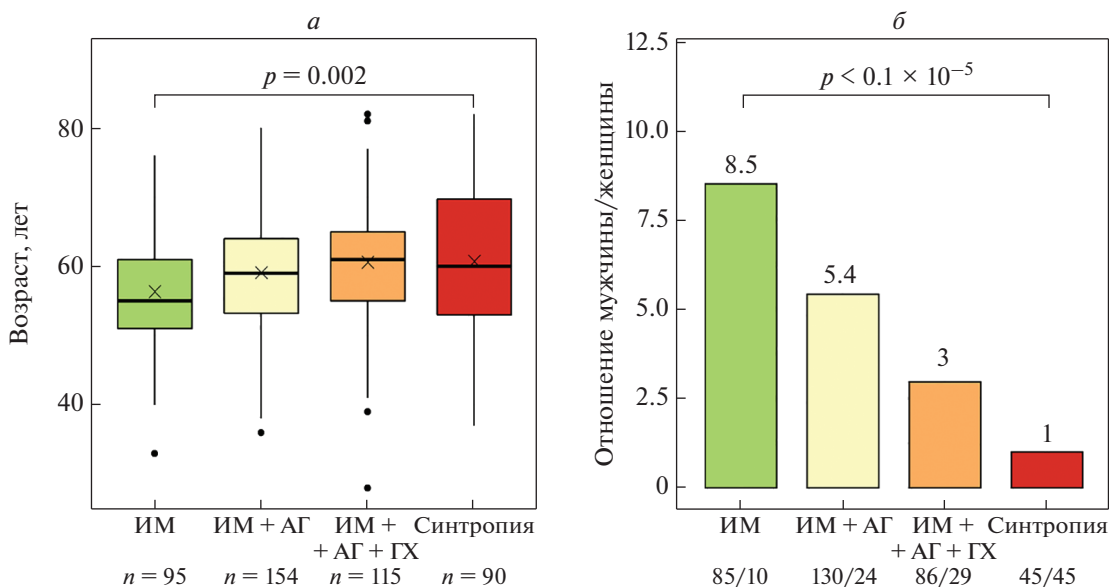


Рис. 1. Связь степени коморбидности заболеваний ССК и среднего возраста пациентов (а), а также соотношения мужчин и женщин (б). ИБС – ишемическая болезнь сердца; ИМ – инфаркт миокарда; ГХ – гиперхолестеринемия; АГ – артериальная гипертензия; СД2 – сахарный диабет второго типа.

glab.cibio.unitn.it/polym pact/). Предикция взаимодействия длинной некодирующей РНК и микроРНК с мРНК генов выполнена с использованием инструментов LncRRsearch (<http://rtools.cbrc.jp/LncRRsearch/index.cgi>), MIENTURNET (<http://userver.bio.uniroma1.it/apps/mienturnet/>) и miRTarBase (https://mirtarbase.cuhk.edu.cn/~miRTarBase/miRTarBase_2022/php/index.php).

РЕЗУЛЬТАТЫ

При разделении группы пациентов с ИБС и ИМ на подгруппы в зависимости от наличия/отсутствия АГ, ГХ и СД2 выявлено, что число коморбидных заболеваний ССК в подгруппах и средний возраст пациентов имеют прямо пропорциональную зависимость, а соотношение мужчин и женщин обратно пропорциональную (рис. 1). В подгруппах “ИМ” и “синтропия ССК” средний возраст составил 56.4 ± 8.7 и 60.7 ± 9.6 лет ($p = 0.002$), а соотношение мужчин и женщин 8.5 (85/10) и 1 (45/45; $p < 0.1 \times 10^{-5}$) соответственно.

В популяции славян-жителей Сибирского региона частота “редких” аллелей rs3739998 (*KIAA1462*), rs3765124 (*ADAMDEC1*) и rs1007856 (*ITGB5*) выше по сравнению с европейцами (табл. 1). Анализ ассоциации показал, что с ИБС, осложненной ИМ, связаны rs1333049 (*CDKN2B-AS1*), rs3739998 (*KIAA1462*), rs3765124 (*ADAMDEC1*), rs1007856 (*ITGB5*) (табл. 1). Генотипы/аллели CC/C rs1333049, CC/C rs3739998, AA/A rs3765124, AA/A rs1007856 ассоциированы с умеренным увеличением риска развития данной патологии. Наиболее “силь-

ную” ассоциацию в отношении ИБС и ИМ показал вариант rs1333049 (*CDKN2B-AS1*): генотип CC увеличивал риск патологии в 1.9 раз (OR = 1.86; 95% CI (1.27–2.72); $p = 0.001$).

Генетические варианты, ассоциированные с ИБС и ИМ, проанализированы как в подгруппах пациентов, которые не имели традиционных факторов риска (АГ, ГХ и СД2), так и в подгруппах с их различными сочетаниями (табл. 2). В результате выявлено, что варианты rs3739998 (*KIAA1462*), rs1991401 (*DDX5*) и rs2878771 (*AQP2*) ассоциированы с развитием ИБС и ИМ без факторов риска. Варианты генов rs1333049 (*CDKN2B-AS1*), rs3765124 (*ADAMDEC1*) и rs1007856 (*ITGB5*) формируют подверженность к ИБС и ИМ на фоне АГ. Полиморфизм rs1333049 (*CDKN2B-AS1*), rs3765124 (*ADAMDEC1*), rs1007856 (*ITGB5*) и rs626750 (*MMP3/MMP12*) связан с риском ИБС и ИМ на фоне АГ и ГХ. Фенотип “синтропия ССК” ассоциирован с вариантами rs3739998 (*KIAA1462*) и rs2277698 (*TIMP2*).

Для понимания механизмов, обеспечивающих связь генетических вариантов с патологией, в работе была оценена *in silico* функциональная значимость SNPs, ассоциированных с заболеваниями ССК (табл. 3). Большая часть вариантов располагается в некодирующих регионах: в интронах (rs1007856 (*ITGB5*), rs1991401 (*DDX5*)); в межгенном регионе локуса 9p21.3 в области белок-некодирующей РНК *CDKN2B-AS1* (rs1333049); между генами *MMP3* и *MMP12* (rs626750); в 3'UTR регионе гена *AQP2* (rs2878771). Миссенс-варианты в генах *KIAA1462* (rs3739998:G>C) и *ADAMDEC1*

Таблица 1. Полиморфные варианты генов, ассоциированные с ИБС и ИМ

| SNP ID/ген | MAF европейцы ($n = 18854$)/жители Сибирского региона ($n = 286$), % | Генотип/аллель, ассоциированный с ИБС | Частота генотипа в популяции/у пациентов с ИБС, %; OR (95%CI); p | Частота аллеля в популяции/у пациентов с ИБС, %; OR (95%CI); p |
|----------------------------------|--|---------------------------------------|--|--|
| rs1333049:G>C/ <i>CDKN2B-AS1</i> | $C = 47/44$ | <i>CC/C</i> | 17.3/28.0; 1.86 (1.27–2.72); 0.002 | 44.2/54.3; 1.50 (1.21–1.87); 0.0002 |
| rs3739998:G>C/ <i>KIAA1462</i> | $G = 44/58$ | <i>CC/C</i> | 15.9/25.6; 1.82 (1.24–2.68); 0.003 | 41.9/50.0; 1.39 (1.12–1.72); 0.003 |
| rs3765124:A>G/ <i>ADAMDEC1</i> | $G = 43/49$ | <i>AA/A</i> | 24.3/34.8; 1.66 (1.19–2.33); 0.004 | 51.1/58.1; 1.32 (1.07–1.63); 0.01 |
| rs1007856:A>G/ <i>ITGB5</i> | $G = 44/52$ | <i>AA/A</i> | 22.2/31.1; 1.58 (1.12–2.24); 0.015 | 48.5/56.2; 1.36 (1.10–1.68); 0.004 |

Примечание. MAF – частота редкого аллеля, согласно базе данных gnomAD NCBI; ИБС – ишемическая болезнь сердца; OR – отношение шансов; 95%CI – 95%-ный доверительный интервал; p – уровень значимости, полученный с помощью критерия χ^2 ; полужирным шрифтом выделена ассоциация с наиболее высоким значением отношения шанса и уровнем значимости.

Таблица 2. Полиморфные варианты генов, ассоциированные с ИБС и ИМ на фоне факторов риска

| Пациенты с ИБС и ИМ | SNP ID/ген | Предрасполагающие генотипы; их частота в популяции/у пациентов; OR (95%CI); p |
|---------------------|--|---|
| Без АГ, ГХ и СД2 | rs3739998:G>C/ <i>KIAA1462</i> | <i>CC</i> ; 15.9/26.8; 2.05 (1.17–3.59); 0.017 |
| | rs1991401:A>G/<i>DDX5</i> | <i>GG</i> ; 12.7/23.9; 2.17 (1.07–4.43); 0.048 |
| | rs2878771:G>C/<i>AQP2</i> | <i>GG</i> ; 61.4/76.4; 2.03 (1.09–3.82); 0.035 |
| С АГ | rs1333049:G>C/ <i>CDKN2B-AS1</i> | <i>CC</i> ; 17.3/27.9; 1.97 (1.21–3.21); 0.008 |
| | rs3765124:A>G/ <i>ADAMDEC1</i> | <i>AA</i> ; 24.3/36.8; 1.81 (1.17–2.81); 0.011 |
| | rs1007856:A>G/ <i>ITGB5</i> | <i>AA</i> ; 22.2/34.4; 1.84 (1.17–2.90); 0.011 |
| С АГ + ГХ | rs1333049:G>C/ <i>CDKN2B-AS1</i> | <i>CC</i> ; 17.3/27.5; 1.82 (1.07–3.10); 0.038 |
| | rs3765124:A>G/ <i>ADAMDEC1</i> | <i>AA</i> ; 24.3/41.3; 2.19 (1.36–3.51); 0.002 |
| | rs1007856:A>G/ <i>ITGB5</i> | <i>AA</i> ; 22.2/37.2; 2.08 (1.28–3.38); 0.004 |
| | rs626750:G>A/<i>MMP3/MMP12</i> | <i>GG</i> ; 60.2/73.6; 1.85 (1.12–3.04); 0.021 |
| С АГ + ГХ + СД2 | rs3739998:G>C/ <i>KIAA1462</i> | <i>CC</i> ; 15.9/35.6; 2.93 (1.69–5.07); 0.0002 |
| | rs2277698:C>T/<i>TIMP2</i> | <i>CC</i> ; 76.9/88.1; 2.31 (1.12–4.76); 0.031 |

Примечание. ИБС – ишемическая болезнь сердца; ИМ – инфаркт миокарда; ГХ – гиперхолестеринемия; АГ – артериальная гипертензия; СД2 – сахарный диабет второго типа; OR – отношение шансов; 95%CI – 95%-ный доверительный интервал; p – уровень значимости, полученный с помощью критерия χ^2 ; полужирным шрифтом выделены SNP/гены, которые ассоциированы только с определенным сочетанием заболеваний ССК.

(rs3765124:A>G) приводят к замене аминокислот в структуре кодируемых ими белков (ENSP00000364526.1:p.Ser1002Thr и ENSP00000256412.4:p.Asn444Ser соответственно). Полиморфизм гена *KIAA1462* является “доброкачественным”, а SNPs гена *ADAMDEC1* – “возможно патогенным”, при использовании

шкал предсказания патогенности геномного браузера Ensembl. Аминокислота серин в обоих белках *KIAA1462* и *ADAMDEC1* подвергается гликозилированию, согласно программе Glycosylation Predictor [14]. В случае rs3739998 (*KIAA1462*):G>C и замены p.Ser1002Thr происходит потеря гликозилирования, а при замене p.Asn444Ser, наобо-

рот, — его приобретение. Вариант rs2277698 (*TIMP2*) приводит к синонимичной замене аминокислот в белке.

При использовании онлайн сервиса HaploReg выявлено, что все ассоциированные с изученными фенотипами SNPs располагаются в регионах активных хроматиновых доменов, которые формируются посредством эпигенетической модификации гистонов, являясь “метками” активных промоторов/энхансеров, локализованы в гиперчувствительных к ДНКазе I сайтах, связываются с транскрипционными факторами (ТФ) или с белками в различных тканях, в том числе в органах-мишенях ССК (табл. 3). Однако согласно шкале RegulomeDB наиболее существенный регуляторный потенциал наблюдается для rs3739998 (*KIAA1462*) и rs1991401 (*DDX5*).

По данным GTEx Portal, который включает данные о генотипах и экспрессии генов в 54 тканях 1000 относительно здоровых индивидов, полиморфные варианты rs3739998 (*KIAA1462*), rs3765124 (*ADAMDEC1*), rs1007856 (*ITGB5*), rs1991401 (*DDX5*) и rs2878771 (*AQP2*) относятся к cis-eQTL-локусам и связаны с изменением экспрессии генов в клетках органов-мишеней ССК (кровь, артерии, сердце, жировая ткань, надпочечники, толстый кишечник и головной мозг; табл. 3). Например, генотип *CC* rs3739998 гена *KIAA1462*, ассоциированный с ИБС и ИМ, в том числе на фоне АГ + ГХ + СД2, связан со снижением экспрессии гена *KIAA1462* в аорте и большеберцовой артерии. Генотип *AA* rs3765124 гена *ADAMDEC1*, увеличивающий риск развития ИБС и ИМ на фоне АГ и ГХ, связан с повышением уровня экспрессии этого гена в аорте, большеберцовой артерии, цельной крови и жировой ткани, а также с повышением экспрессии гена *ADAM28* в цельной крови.

Для облегчения функциональной интерпретации регуляторных генетических вариантов из транскрипционных ресурсов популяционного масштаба, таких как GTEx и др., разработан инструмент FIVEx (Functional Interpretation and Visualization of Expression), с помощью которого можно оценить вероятность того, что конкретный генетический вариант является причинным и тканеспецифичным для изменения экспрессии гена/генов выявить совместно регулируемые гены, использовать дополнительную информацию из других ресурсов (GWAS Catalog, UKB PheWeb, FinnGEN PheWeb и др.). Согласно данным FIVEx, генетические варианты rs3765124 (*ADAMDEC1*), rs1007856 (*ITGB5*), rs1991401 (*DDX5*) и rs2878771 (*AQP2*), ассоциированные с изученными в настоящем исследовании фенотипами, могут влиять на изменение экспрессии генов в тканях-мишенях сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), но это влияние оценивается как слабое, а SNPs не являются причинными (табл. 3). Только rs1991401 гена *DDX5*,

возможно, представляет собой причинный вариант, обуславливающий изменение экспрессии генов *CEP95* (PIP — posterior inclusion probabilities, характеристика “причинности” варианта = 1) и *DDX5* в клетках крови — нейтрофилах, Т-клетках (PIP = 0.99), а также гена *POLG2* в нейтрофилах крови (PIP = 0.98).

Вместе с тем информация о функциональной роли SNP, основанная на вышепредставленных ресурсах, не в полной мере отражает механизмы регуляции функционирования генов в тканях при различных патологических состояниях. В одном из исследований (STARNET) был проведен анализ eQTL на основе РНК-секвенирования (RNA-seq) тканей внутренней грудной артерии без атеросклеротических поражений, корня аорты, крови, подкожной жировой ткани, висцеральной брюшной жировой ткани, скелетных мышц и печени, полученных от 600 человек, перенесших аортокоронарное шунтирование. Было обнаружено значительно больше eQTL-локусов, чем в исходном наборе данных GTEx, что подчеркивает тот факт, что не все регуляторные варианты заболевания могут быть обнаружены в здоровых тканях [15]. При сопоставлении данных, полученных в настоящем исследовании, и данных STARNET показано, что rs1333049 является цис-eQTL для гена *CDKN2B* и транс-eQTL для генов *AFF1*, *UBN2*, *USP47*, *EC11* и *GABARAPL3* в тканях внутренней грудной артерии у больных ИБС [9].

На основании данных ресурса POLYMPACT проведена оценка влияния SNPs, показавших ассоциации с коморбидными фенотипами, на изменение сайтов связывания транскрипционных факторов. На гены ТФ приходится 8% всех генов человека и мутации или полиморфные варианты в этих генах, а также нарушение последовательности ДНК в сайтах связывания ТФ ассоциированы с широким спектром заболеваний и фенотипов [16]. Оценка изменения ДНК-связывающих мотивов ТФ показала, что помимо изменения аффинности ТФ наличие альтернативных аллелей некоторых SNPs приводит к потере имеющихся или появлению новых сайтов связывания (табл. 3).

Наиболее значимые изменения в функционировании генома происходят, вероятно, при появлении или исчезновении сайтов связывания ТФ. Так, выявлено, что наличие альтернативного аллеля *C* rs1333049 (*CDKN2B-AS1*) приводит к потере сайта связывания для ТФ *SALL1*, *ZNF713*, *ZNF14*, аллеля *G* rs1991401 (*DDX5*) — к потере сайта для *ZNF791* и появлению сайта для *ZNF430*, аллеля *C* rs2878771 (*AQP2*) — к появлению сайта для *TBX3*, а аллеля *A* rs626750 (*MMP3/MMP12*) — к появлению сайта для *CEBPB* (табл. 3).

Таблица 3. Функциональная значимость восьми SNPs, ассоциированных с заболеваниями ССК

| № | SNP ID/тип/ген/локус | Предрасполагающий генотип/заболевание ССК | Оценка регуляторного потенциала SNP | | cis-eQTL-локусы (генотип/аллель, направление изменения экспрессии, ген – ткань) | POLYMAP (аллель, изменение аффинности сайта связывания TF, название TF) | | |
|---|--|---|--|-----------------------|---|---|---|---|
| | | | HaploReg | RegulomeDB ранг/шкала | | | GTEEx Portal | NESDA NTR Conditional eQTL Catalog |
| 1 | rs1333049:G>C/ межгенный/ <i>CDKN2B-AS1</i> /9p21.3 | СС; ИБС с ИМ; ИБС с ИМ + АГ; ИБС с ИМ + АГ + ГХ | МГ (2), ТФ (2) | 5/0.13 | – | – | С “–” SALL1, ZNF713, ZNF14; v SIRT6, MYOD1; ^ POLR3A, SALL3 | |
| 2 | rs3739998:G>C/ миссенс/ <i>KIAA1462</i> (<i>JCAD</i>)/10p11.23 | СС; ИБС с ИМ; ИБС с ИМ + АГ + ГХ + СД2 | МГ (21), ДНКза (19), ТФ (2), СБ (1) | 1b/0.64 | СС↓ <i>KIAA1462</i> – А, ББА | – | – | |
| 3 | rs3765124:A>G/ миссенс/ <i>ADAMDEC1</i> /8p21.2 | АА; ИБС с ИМ; ИБС с ИМ + АГ; ИБС с ИМ + АГ + ГХ | МГ (2), ТФ (3) | 7/0.18 | АА↑ <i>ADAMDEC1</i> – А, ББА, К, ЖТ; АА↑ <i>ADAM28</i> – К | Г↓ <i>ADAMDEC1</i> – К (моноциты); Г↓ <i>ADAM28</i> – К (нейтрофилы) | – | |
| 4 | rs1007856:A>G/ интрон/ <i>ITGB5</i> /3q21.2 | АА; ИБС с ИМ; ИБС с ИМ + АГ; ИБС с ИМ + АГ + ГХ | ДНКза (9), ТФ (4) | 4/0.61 | АА↓ <i>ITGB5</i> – А, КА, ББА, К | – | Г↓ <i>ITGB5</i> – ЖТ; Г↑ <i>ITGB5</i> – ББА | Г v PGR, ТМЕМ37; ^ SMAD4, ZNF266 |

Таблица 3. Окончание

| № | SNP ID/тип/ген/локус | Предрасполагающий генотип/заболевания ССК | Оценка регуляторного потенциала SNP | | cis-eQTL-локусы (генотип/аллель, направление изменения экспрессии, ген – ткань) | POLYMAPS (аллель, изменение аффинности сайта связывания TF, название TF) |
|---|--|---|---------------------------------------|-----------------------|---|--|
| | | | HarloReg | RegulomeDB ранг/шкала | | |
| 5 | rs1991401:A>G/интрон/DDX5/2 kb “вверх” от гена CEP95/17q23.3 | GG; ИБС с ИМ | МГ (24), ДНКазы (53), ТФ (3), СБ (44) | 2a/0.83 | GG↓ DDX5 – К, БАА, А, ЖТ, ГМ; GG↑ CEP95 – К, БАА, А | G “+” ZNF430; “–” ZNF791; √ HOXC13; √ ZNF679 |
| 6 | rs2878771:G>C/3'UTR AQP2/интрон гена LOC101927318/12q13.12 | GG; ИБС с ИМ | МГ (1), ДНКазы (1), ТФ (1) | 4/0.61 | GG↓ AQP2 – ГМ; GG↓ VCDIN3D – НП | C “+” TBX3; √ SMAD1-9 |
| 7 | rs626750:G>A/межгенный/MMP3 и MMP12/11q22.2 | GG; ИБС с ИМ + АГ + ГХ | МГ (6), ДНКазы (1), ТФ (2) | 7/0.18 | GG↑ MMP1 – ТК | A “+” SEVBP; √ ANR |
| 8 | rs2277698:C>T/синонимичная замена/TIMP2/17q25.3 | CC; ИБС с ИМ + АГ + ГХ + СД2 | МГ (3) | 5/0.13 | T↓ TIMP2 – К | T √ GTF2IRD1 √ ZNF766 |

Примечание. ИБС – ишемическая болезнь сердца; ИМ – инфаркт миокарда; ГХ – гиперхолестеринемия; АГ – артериальная гипертензия; СД2 – сахарный диабет второго типа; МГ (количество тканей) – модификации гистонов; ДНКазы (количество тканей) – гиперчувствительные к ДНКазе I сайты; ТФ (количество факторов) – транскрипционные факторы; СБ (количество белков) – связанные белки; А – аорта, БАА – аортальная дисплазия; ГМ – головной мозг, ЖТ – жировая ткань, КА – коронарная артерия, К – кровь, НП – надпочечники, ТК – толстый кишечник; “–” – потеря сайта связывания для ТФ; “+” – появление сайта связывания для ТФ; √ – снижение аффинности для связывания ТФ более чем в 2 раза; √ – повышение аффинности связывания ТФ более чем в 2 раза; √ – повышение аффинности связывания ТФ более чем в 2 раза; полужирным шрифтом выделены генетические варианты, которые являются “причинными” для изменения экспрессии генов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования показали, что накопление коморбидных заболеваний ССК связано с увеличением возраста пациентов, а при нарастании количества патологических фенотипов происходит изменение соотношения полов — увеличение доли женщин и уменьшение мужчин. Увеличение числа заболеваний с возрастом является известным фактом. Так, например, показано, что в США два и более хронических заболеваний наблюдаются у половины лиц моложе 65 лет, у 63% лиц в возрасте 65–74 года и у 83% лиц в возрасте 85 лет и старше [17]. Соотношение между мужчинами и женщинами с возрастом также в целом меняется в сторону увеличения численности женщин. По данным РОССТАТа в Российской Федерации в 2021 г. соотношение мужчин и женщин в возрастной группе 30–34 года составило 1.01, тогда как в группе 80–84 года — 0.35 [18]. Однако по тем же данным между возрастными группами 55–59 и 60–64 года, куда относятся пациенты исследуемых в настоящей работе групп, различия в соотношении мужчины/женщины незначительны (0.811 и 0.730 соответственно). В настоящем же исследовании показано, что с возрастанием степени коморбидности соотношение между полами изменяется значительно (от 8.5 до 1), что может говорить о том, что коморбидные состояния при ССЗ являются фактором меньшей выживаемости мужчин по сравнению с женщинами.

В результате исследования выявлено, что SNPs rs1333049 (*CDKN2B-AS1*), rs3739998 (*KIAA1462*), rs3765124 (*ADAMDEC1*), rs1007856 (*ITGB5*), rs1991401 (*DDX5*), rs2878771 (*AQP2*), rs2277698 (*TIMP2*) и rs626750 (*MMP3/MMP12*) формируют генетическую структуру предрасположенности коморбидности заболеваний сердечно-сосудистого континуума. Причем с большим количеством патологических фенотипов заболеваний ССК ассоциированы rs1333049 (*CDKN2B-AS1*), rs3739998 (*KIAA1462*), rs3765124 (*ADAMDEC1*) и rs1007856 (*ITGB5*), что подтверждает некоторые ранее установленные ассоциации. Так, например, в полногеномных ассоциативных исследованиях [2] и в популяции жителей Западной Сибири [19, 20] показана ассоциация генотипов *CC* rs1333049 (*CDKN2B-AS1*) и *CC* rs3739998 (*KIAA1462*) с ИБС/ИМ.

Связь rs1333049 с ИБС объясняется его тесным сцеплением с другими вариантами локуса 9p21.3, которые изменяют функциональную активность генов клеточного цикла (*CDKN2B*, *CDKN2A*) и гена длинной некодирующей РНК (*ANRIL* или *CDKN2B-AS1*) в клетках крови и атеросклеротических бляшек коронарных артерий, в результате чего нарушаются процессы адгезии моноцитов к эндотелиальным клеткам, пролиферации, миграции и апоптоза гладкомышечных клеток сосудов, ремоделирования внеклеточного матрикса и от-

вет на воспаление [21]. Неслучайно в исследовании STARNET, включающем пациентов с ИБС, в ткани внутренней грудной артерии показана связь rs1333049 с экспрессией не только гена *CDKN2B*, но и других дистантных генов *AFF1*, *UBN2*, *USP47*, *ECI1* и *GABARAPL3* [9]. В основе последней ассоциации, по-видимому, лежит взаимодействие *CDKN2B-AS1* с мРНК данных генов (LncRRIsearch), а *CDKN2B-AS1* может быть “губкой” для miR-3074-3p, экспериментально подтвержденными мишенями которой являются *UBN2* и *AFF1*, экспрессируемые в артериях (MIENTURNET и miRTarBase).

Полиморфизм локуса 9p21.3 связан с увеличением экспрессии *ANRIL*, большим количеством пораженных атеросклерозом коронарных артерий, тяжестью ИБС и риском развития ИМ [22]. Аллель *C* rs1333049 модулирует ассоциацию между уровнем диастолического артериального давления и степенью кальцификации коронарных артерий, внося вклад в патогенез ИБС [23]. В настоящем исследовании выявлена связь генотипа *CC* и аллеля *C* rs1333049 с риском развития ИБС и ИМ в сочетании с факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний (артериальная гипертензия и гиперхолестеринемия). Ранее в работе О.А. Макеевой с соавт. [10] также показана ассоциация rs1333049 с “синтропией ССК”, т.е. фенотипом ИБС + АГ + ГХ + СД2 [10], но в настоящем исследовании ассоциация не была подтверждена. Различия можно объяснить тем, что в настоящей работе выборка “синтропия ССК” включала преимущественно женщин с ИБС в сочетании с ИМ, а не только с ИБС, как в работе [10].

При попытке выявить механизмы, объясняющие ассоциацию rs1333049 с патологическими фенотипами ССК, было обнаружено, что наличие аллеля *C* rs1333049 приводит к потере сайта связывания для ТФ *SALL1*, *ZNF713*, *ZNF14* и снижению аффинности для *SIRT6* (табл. 3). В свою очередь *SALL1* входит в область дупликации из числа CNV, связанных с синдромом гипоплазии правых отделов сердца [24], а *SIRT6* участвует в регуляции метаболизма глюкозы и липидов, тем самым влияя на такие патологические состояния, как сахарный диабет, ожирение, сердечно-сосудистые и онкологические заболевания [25].

Полиморфизм rs3739998 гена *KIAA1462*, согласно критериям патогенности (шкала PolyPhen геномного браузера Ensembl), приводит к “доброкачественной” миссенс-замене аминокислот (p.Ser1002Thr) в структуре белкового продукта данного гена [26]. Тем не менее по данным программ предикции NaploReg и RegulomeDB rs3739998 — регуляторный вариант (rSNPs) в отношении контроля экспрессии генов в различных тканях, что может быть связано с тем, что он является сайтом связывания белка CTCF [26, 27],

который, в свою очередь, является многофункциональным транскрипционным фактором.

Полиморфизм rs3739998:G>C сцеплен с локализованным в интроне вариантом rs2487928:G>A и с синонимичной заменой rs9337951:G>A, альтернативные аллели которых связаны с риском развития ИБС и повышенного артериального давления [2]. В исследовании STARNET, включающем пациентов с ИБС, аллель A rs2487928 и аллель A rs9337951, ассоциированные с патологией, связаны с увеличением экспрессии гена *KIAA1462* в пораженной атеросклерозом аорте [9]. В настоящем исследовании генотип CC rs3739998, ассоциированный с заболеваниями ССК, связан со снижением экспрессии гена *KIAA1462* в аорте и в большеберцовой артерии у относительно здоровых индивидов (по данным GTEx Portal). Таким образом, имеется противоречие в направленности связи генотипов rs3739998, rs2487928 и rs9337951, ассоциированных с патологией, с экспрессией гена *KIAA146* в артериях. Это может быть обусловлено сложной регуляцией функциональной активности гена в различных клетках и тканях в норме и при патологии, в том числе посредством расположенного в этом же локусе гена белок-некодирующей РНК *LOC101929256*. Кроме того, замена p.Ser1002Thr, согласно программе Glycosylation Predictor, приводит к потере гликозилирования, что может изменить свойства белка, в частности, способствовать его нестабильности у носителей генотипа CC. Белок JCAD (junctional cadherin 5 associated), кодируемый геном *KIAA146*, является механочувствительным и взаимодействует с актин-связывающими белками, активируя сигнальный путь Hippo/YAP/TAZ [28]. У мышей с делецией гена *Jcad* только в эндотелиальных клетках отмечается уменьшение количества и степени выраженности атеросклеротических бляшек в аорте [28]. Это подчеркивает важную роль JCAD в развитии атеросклеротического поражения артерий и возможно в формировании нестабильной атеросклеротической бляшки и следовательно риске развития острых сосудистых событий. Однако для решения вопроса о механизмах связи JCAD вариативности локуса гена *KIAA146* (10p11.23) с другими фенотипами ССК (например, ожирением [29]) необходимо проведение дополнительных функциональных исследований.

Миссенс-вариант rs3765124 гена *ADAMDEC1* относится к категории “возможно патогенных”, согласно шкале PolyPhen предсказания патогенности геномного браузера Ensembl, приводя к замене p.Asn444Ser в дезинтегриновом домене белка, который особенно важен для взаимодействия с другими белками, в частности интегринами. Однако у *ADAMDEC1* этот домен сильно укорочен по сравнению с другими белками *ADAM*-семейства, что, возможно, отражает его нефункциональность в отношении связывания с интегринами [30]. Более

того, по данным Glycosylation Predictor замена p.Asn444Ser приводит к приобретению гликозилирования серина, что может изменить свойства *ADAMDEC1*, который экспрессируется в зрелых дендритных клетках и при трансформации моноцитов в макрофаги [30, 31]. Предполагают, что роль данного белка при воспалительных заболеваниях, включая атеросклероз, связана с иммунным ответом [32–34]. С другой стороны, *ADAMDEC1* выявлен в активированных тромбоцитах, где он участвует в образовании высокомолекулярного эпидермального ростового фактора (EGF) [35], который, в свою очередь, регулирует пролиферацию эндотелиальных клеток, активацию макрофагов в атеросклеротических бляшках и ремоделирование сосудов, тем самым играя важную роль в атеросклерозе и артериальной гипертензии [36].

Кроме изменения свойств *ADAMDEC1*, связь rs3765124 с патологией может быть объяснена его тесным сцеплением с другими функционально значимыми вариантами. В частности, в локусе 8p12 выявлены вариации числа копий участков ДНК (CNV), которые затрагивают гены *ADAMDEC1*, *ADAM7*, *ADAM28*, а также ген белок-некодирующей РНК *LOC101929294* [37, 38]. В настоящем исследовании показано, что генотип AA rs3765124 гена *ADAMDEC1* ассоциирован с риском заболеваний ССК. Индивиды с данным генотипом характеризуются увеличением экспрессии гена *ADAMDEC1* в клетках крови, артерий и жировой ткани, а также увеличением экспрессии гена *ADAM28* в клетках крови (по данным GTEx Portal). Ранее было показано, что экспрессия гена *ADAMDEC1* значительно повышается в нестабильных регионах атеросклеротических бляшек сонных артерий по сравнению со стабильными участками [39], а аллель A rs3765124 (*ADAMDEC1*) входит в состав гаплотипа, который ассоциирован с повышением уровня FVIII в плазме крови при венозной тромбоэмболии [40], что связано с артериальным тромбозом при ИБС и факторами риска атеросклероза (уровни инсулина, глюкозы, холестерина ЛПНП в сыворотке крови) [41].

Связь генотипа AA rs1007856 гена *ITGB5* с риском развития заболеваний ССК установлена в настоящем исследовании впервые, хотя другой вариант, rs142695226, расположенный между генами *ITGB5* и *UMPS*, ассоциирован с ИБС по данным метаанализа GWAS CARDIoGRAMplusC4D и UK Biobank [42], а полиморфизм rs4141663 – с уровнем артериального давления [42]. Согласно GTEx Portal, генотип AA rs1007856 (*ITGB5*) связан со снижением экспрессии гена *ITGB5* в клетках крови и артерий. Кроме того, показано, что экспрессия гена *ITGB5* снижена в нестабильных атеросклеротических бляшках различных артерий по сравнению с интактными внутренними грудными ар-

териями, однако она повышается в мононуклеарных клетках крови при инфаркте миокарда [43].

Ген *ITGB5* кодирует бета-субъединицу интегрина, которая в комбинации с различными альфа-цепями формирует гетеродимеры белка, важного для находящихся на поверхности клеток рецепторов адгезии и передачи сигналов в клетку. Существует целый ряд экспериментальных работ, которые подчеркивают важную роль интегрина $\alpha\beta5$ в атерогенезе. Мыши с гомозиготной делецией $\beta5^{-/-}$ были жизнеспособны, нормально развивались и были способны к репродукции, однако демонстрировали повышенную проницаемость сосудов в ответ на действие эндотелиального ростового фактора сосудов (VEGF) и аномальный ангиогенез [44]. Более того, интегрин $\alpha\beta5$ играет важную роль в адгезии, миграции и пролиферации гладкомышечных клеток аорты при атерогенезе [45].

Кроме вышеописанных ассоциаций полиморфных вариантов генов с наибольшим количеством изученных фенотипов, также установлены ассоциации: rs1991401 (*DDX5*) и rs2878771 (*AQP2*) с развитием ИБС и ИМ без традиционных факторов риска; rs626750 (*MMP3/MMP12*) с ИБС и ИМ на фоне артериальной гипертензии и гиперхолестеринемии; rs2277698 (*TIMP2*) с фенотипом “синтропия ССК”.

По данным RegulomeDB наиболее сильным регуляторным потенциалом обладает rs1991401 (*DDX5*) в отношении экспрессии генов *DDX5* и *CEP95* в различных тканях и органах. Ген *DDX5* кодирует мультифункциональную РНК-хеликазу, которая участвует в ремоделировании сосудов [46]. Кроме того, по данным POLYMPACT наличие аллеля *G* rs1991401 (*DDX5*) приводит к потере сайта для ТФ ZNF791 и появлению сайта для ZNF430.

Полиморфный вариант rs2878771 гена *AQP2* также является cis-eQTL-локусом и связан с изменением уровня экспрессии гена *LASS5* (*CERS5*) в клетках крови. Продукт гена *LASS5* изменяет синтез керамидов в эндотелиальных клетках через АМПК-Альфа путь, что может быть важным звеном патогенеза атеросклероза [47]. По данным POLYMPACT наличие аллеля *C* rs2878771 (*AQP2*) приводит к появлению сайта для ТФ TBX3 и снижению аффинности для SMAD1-9, а наличие аллеля *A* rs626750 (*MMP3/MMP12*) – к появлению сайта для СЕВРВ. Показано, что ТФ TBX3 играет критическую роль в развитии сердца, а мутации в гене *TBX3* связаны со множественными дефектами развития, включая пороки сердца [48]; СЕВРВ ассоциирован с резистентностью к инсулину, плохим гликемическим контролем и повышенным кардиометаболическим риском, а аллельные варианты гена *CEBPB* могут влиять на метаболические нарушения, развитие диабета второго типа и сердечно-сосудистых заболеваний [49, 50].

Члены семейства SMAD являются участниками сигнального пути трансформирующего фактора роста-бета (TGF- β), и редкие миссенс-варианты, в частности, в гене *SMAD4* могут приводить к аневризмам и расслоению грудной аорты [51].

В заключение следует отметить, что ИБС, осложненная ИМ, которая развивается на фоне факторов риска (артериальная гипертензия, гиперхолестеринемия и сахарный диабет второго типа), представляет собой сложный для изучения фенотип. Анализ ассоциаций генетического полиморфизма с коморбидностью заболеваний ССК является одним из этапов изучения связи генотипа и фенотипа, однако он не позволяет однозначно понять, лежит ли в основе выявленной ассоциации истинная плеiotропия. Несмотря на ограничение исследования, заключающееся в небольшой численности выборок-подгрупп при анализе отдельных фенотипов ССК, в настоящей работе подтверждена установленная ранее в широкогеномных исследованиях ассоциация генотипов *CC* rs1333049 (*CDKN2B-AS1*) и *CC* rs3739998 (*KIAA1462*) с риском развития ишемической болезни сердца и инфаркта миокарда. Полиморфные варианты rs3765124 (*ADAMDEC1*), rs1007856 (*ITGB5*), rs1991401 (*DDX5*), rs2878771 (*AQP2*), rs2277698 (*TIMP2*) и rs626750 (*MMP3/MMP12*) после репликации ассоциации в больших по размеру выборках и построения прогностических моделей могут быть использованы в качестве биомаркеров для тестирования подверженности коморбидным заболеваниям сердечно-сосудистого континуума.

Кроме того, необходимы экспериментальные исследования культур клеток и модельных животных для определения функциональной значимости генетического полиморфизма, ассоциированного с заболеваниями ССК. Особый интерес с данной точки зрения представляют варианты rs3739998 (*KIAA1462*) и rs3765124 (*ADAMDEC1*), поскольку это одновременно миссенс-варианты, приводящие к аминокислотной замене в структуре их белков, и cis-eQTL-локусы, изменяющие экспрессию генов *KIAA1462*, *ADAMDEC1* и *ADAM28* в клетках органов-мишеней ССК (кровь, артерии, сердце, жировая ткань и головной мозг).

Таким образом, в результате настоящего исследования установлено, что варианты rs1333049 (*CDKN2B-AS1*), rs3739998 (*KIAA1462*), rs3765124 (*ADAMDEC1*), rs1007856 (*ITGB5*), rs1991401 (*DDX5*), rs2878771 (*AQP2*), rs2277698 (*TIMP2*) и rs626750 (*MMP3/MMP12*) формируют генетическую структуру подверженности коморбидности заболеваний сердечно-сосудистого континуума. eQTL rs1333049, rs3739998, rs3765124, rs1007856 и rs1991401 могут быть вовлечены в тканеспецифичные регуляторные механизмы при данных заболеваниях. Предположено, что длинная некодирующая РНК *CDKN2B-AS1* регулирует miR-3074-3p/AFF1,

UBN2 ось в клетках артерий, принимая участие в патогенезе их атеросклеротического поражения.

Работа выполнена в рамках Государственного задания Министерства науки и высшего образования № 122020300041-7.

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национально-го комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Dzau V., Braunwald E.* Resolved and unresolved issues in the prevention and treatment of coronary artery disease: A workshop consensus statement // *Am. Heart J.* 1991. V. 121. № 4. Pt 1. P. 1244–1263. [https://doi.org/10.1016/0002-8703\(91\)90694-d](https://doi.org/10.1016/0002-8703(91)90694-d)
2. *Buniello A., MacArthur J.A.L., Cerezo M. et al.* The NHGRI-EBI GWAS Catalog of published genome-wide association studies, targeted arrays and summary statistics 2019 // *Nucl. Acids Res.* 2019. V. 47. № D1. P. 1005–1012. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1120>
3. *Gottesman O., Drill E., Lotay V. et al.* Can genetic pleiotropy replicate common clinical constellations of cardiovascular disease and risk? // *PLoS One.* 2012. V. 7. № 9. P. e46419. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046419>
4. *Wu C., Li S., Cui Y.* Genetic association studies: An information content perspective // *Curr. Genomics.* 2012. V. 13. № 7. P. 566–573. <https://doi.org/10.2174/138920212803251382>
5. *Rankinen T., Sarzynski M.A., Ghosh S., Bouchard C.* Are there genetic paths common to obesity, cardiovascular disease outcomes, and cardiovascular risk factors? // *Circ. Res.* 2015. V. 116. № 5. P. 909–922. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.302888>
6. *Kraja A.T., Chasman D.I., North K.E. et al.* Pleiotropic genes for metabolic syndrome and inflammation // *Mol. Genet. Metab.* 2014. V. 112. № 4. P. 317–338. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2014.04.007>
7. *Yao C., Chen B.H., Joehanes R. et al.* Integromic analysis of genetic variation and gene expression identifies networks for cardiovascular disease phenotypes // *Circulation.* 2015. V. 131. № 6. P. 536–549. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.010696>
8. *Jia X., Yang Y., Chen Y. et al.* Multivariate analysis of genome-wide data to identify potential pleiotropic genes for type 2 diabetes, obesity and coronary artery disease using MetaCCA // *Int. J. Cardiol.* 2019. V. 283. P. 144–150. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2018.10.102>
9. *Franzén O., Ermel R., Cohain A. et al.* Cardiometabolic risk loci share downstream cis- and trans-gene regulation across tissues and diseases // *Science.* 2016. V. 353. № 6301. P. 827–830. <https://doi.org/10.1126/science.aad6970>
10. *Makeeva O.A., Sleptsov A.A., Kulish E.V. et al.* Genomic study of cardiovascular continuum comorbidity // *Acta Naturae.* 2015. V. 7. № 3. P. 89–99. <https://doi.org/10.32607/20758251-2015-7-3-89-99>
11. *Гончарова И.А., Макеева О.А., Голубенко М.В. и др.* Гены фиброгенеза в детерминации предрасположенности к инфаркту миокарда // *Мол. биология.* 2016. Т. 50. № 1. С. 94–105. <https://doi.org/10.7868/S0026898415060099>
12. *Гончарова И.А., Назаренко М.С., Бабушкина Н.П. и др.* Генетическая предрасположенность к инфаркту миокарда в разных возрастных группах // *Мол. биология.* 2020. Т. 54. № 2. С. 224–232. <https://doi.org/10.31857/S0026898420020044>
13. *Гончарова И.А., Печерина Т.Б., Марков А.В. и др.* Роль генов фиброгенеза в формировании подверженности к коронарному атеросклерозу // *Кардиология.* 2018. Т. 58. № 8. С. 33–44. <https://doi.org/10.18087/cardio.2018.8.10160>
14. *Hamby S.E., Hirst J.D.* Prediction of glycosylation sites using random forests // *BMC Bioinformatics.* 2008. V. 9. P. 500. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-9-500>
15. *Wong D., Turner A.W., Miller C.L.* Genetic insights into smooth muscle cell contributions to coronary artery disease // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2019. V. 39. № 6. P. 1006–1017. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.119.312141>
16. *Lambert S.A., Jolma A., Campitelli L.F. et al.* The human transcription factors // *Cell.* 2018. V. 172. № 4. P. 650–665. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.01.029>
17. *Forman D.E., Maurer M.S., Boyd C. et al.* Multimorbidity in older adults with cardiovascular disease // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2018. V. 71. № 19. P. 2149–2161. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.03.022>
18. *Федеральная служба государственной статистики (РОССТАТ).* Численность населения Российской Федерации по полу и возрасту на 1 января 2021 года (Статистический бюллетень). М., 2021. 443 с. https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/Bul_chislen_nasel-pv_01-01-2021.pdf
19. *Shakhtshneider E., Orlov P., Semaev S. et al.* Analysis of polymorphism rs1333049 (located at 9P21.3) in the white population of Western Siberia and associations with clinical and biochemical markers // *Biomolecules.* 2019. V. 9. № 7. P. 290. <https://doi.org/10.3390/biom9070290>
20. *Nikulina S., Artyukhov I., Shesternya P. et al.* Clinical application of chromosome 9p21.3 genotyping in patients with coronary artery disease // *Exp. Ther. Med.* 2019. V. 18. № 4. P. 3100–3108. <https://doi.org/10.3892/etm.2019.7884>
21. *Cunnington M.S., Koref M.S., Mayosi B.M. et al.* Chromosome 9p21 SNPs associated with multiple disease phenotypes correlate with ANRIL expression // *PLoS Genet.* 2010. V. 6. № 4. P. e1000899. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000899>
22. *Almontashiri N.A., Fan M., Cheng B.L. et al.* Interferon- γ activates expression of p15 and p16 regardless of 9p21.3

- coronary artery disease risk genotype // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2013. V. 61. № 2. P. 143–147.
<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2012.08.1020>
23. Kim D.S., Smith J.A., Bielak L.F. et al. The relationship between diastolic blood pressure and coronary artery calcification is dependent on single nucleotide polymorphisms on chromosome 9p21.3 // *BMC Med. Genet.* 2014. V. 15. P. 89.
<https://doi.org/10.1186/s12881-014-0089-2>
 24. Giannakou A., Sicko R.J., Kay D.M. et al. Copy number variants in hypoplastic right heart syndrome // *Am. J. Med. Genet. A.* 2018. V. 176. № 12. P. 2760–2767.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.40527>
 25. Kugel S., Mostoslavsky R. Chromatin and beyond: The multitasking roles for SIRT6 // *Trends Biochem. Sci.* 2014. V. 39. № 2. P. 72–81.
<https://doi.org/10.1016/j.tibs.2013.12.002>
 26. Howe K.L., Achuthan P., Allen J. et al. Ensembl 2021 // *Nucl. Acids Res.* 2021. V. 49. № D1. P. D884–D891.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkaa942>
 27. Boyle A.P., Hong E.L., Hariharan M. et al. Annotation of functional variation in personal genomes using RegulomeDB // *Genome Res.* 2012. V. 22. № 9. P. 1790–1797.
<https://doi.org/10.1101/gr.137323.112>
 28. Xu S., Xu Y., Liu P. et al. The novel coronary artery disease risk gene JCAD/KIAA1462 promotes endothelial dysfunction and atherosclerosis // *Eur. Heart. J.* 2019. V. 40. № 29. P. 2398–2408.
<https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz303>
 29. Price R.A., Li W.D., Bernstein A. et al. A locus affecting obesity in human chromosome region 10p12 // *Diabetologia.* 2001. V. 44. № 3. P. 363–366.
<https://doi.org/10.1007/s001250051627>
 30. Bates E.E., Fridman W.H., Mueller C.G. The ADAMDEC1 (decysin) gene structure: Evolution by duplication in a metalloprotease gene cluster on chromosome 8p12 // *Immunogenetics.* 2002. V. 54. № 2. P. 96–105.
<https://doi.org/10.1007/s00251-002-0430-3>
 31. Fritsche J., Müller A., Hausmann M. et al. Inverse regulation of the ADAM-family members, decysin and MADDAM/ADAM19 during monocyte differentiation // *Immunology.* 2003. V. 110. № 4. P. 450–457.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2003.01754.x>
 32. Crouser E.D., Culver D.A., Knox K.S. et al. Gene expression profiling identifies MMP-12 and ADAMDEC1 as potential pathogenic mediators of pulmonary sarcoidosis // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2009. V. 179. № 10. P. 929–938.
<https://doi.org/10.1164/rccm.200803-490OC>
 33. Balakrishnan L., Nirujogi R.S., Ahmad S. et al. Proteomic analysis of human osteoarthritis synovial fluid // *Clin. Proteomics.* 2014. V. 11. № 1. P. 6.
<https://doi.org/10.1186/1559-0275-11-6>
 34. Liu T., Deng Z., Xie H. et al. ADAMDEC1 promotes skin inflammation in rosacea via modulating the polarization of M1 macrophages // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2020. V. 521. № 1. P. 64–71.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.10.073>
 35. Chen R., Jin G., McIntyre T.M. The soluble protease ADAMDEC1 released from activated platelets hydrolyzes platelet membrane pro-epidermal growth factor (EGF) to active high-molecular-weight EGF // *J. Biol. Chem.* 2017. V. 292. № 24. P. 10112–10122.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M116.771642>
 36. Lamb D.J., Modjtahedi H., Plant N.J., Ferns G.A. EGF mediates monocyte chemotaxis and macrophage proliferation and EGF receptor is expressed in atherosclerotic plaques // *Atherosclerosis.* 2004. V. 176. № 1. P. 21–26.
<https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2004.04.012>
 37. MacDonald J.R., Ziman R., Yuen R.K. et al. The database of genomic variants: A curated collection of structural variation in the human genome // *Nucl. Acids Res.* 2014. V. 42. P. D986–D992.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkt958>
 38. Gene [Internet] // Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information. 2008. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>
 39. Paspaspyridonos M., Smith A., Burnand K.G. et al. Novel candidate genes in unstable areas of human atherosclerotic plaques // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006. V. 26. № 8. P. 1837–1844.
<https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000229695.68416.76>
 40. Berger M., Moscatelli H., Kulle B. et al. Association of ADAMDEC1 haplotype with high factor VIII levels in venous thromboembolism // *Thromb. Haemost.* 2008. V. 99. № 5. P. 905–908.
<https://doi.org/10.1160/TH08-01-0059>
 41. Kamphuisen P.W., Eikenboom J.C., Bertina R.M. Elevated factor VIII levels and the risk of thrombosis // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2001. V. 21. № 5. P. 731–738.
<https://doi.org/10.1161/01.atv.21.5.731>
 42. Verweij N., Eppinga R.N., Hagemeyer Y., van der Harst P. Identification of 15 novel risk loci for coronary artery disease and genetic risk of recurrent events, atrial fibrillation and heart failure // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. № 1. P. 2761.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-03062-8>
 43. Oksala N., Pärssinen J., Seppälä I. et al. Kindlin 3 (FERMT3) is associated with unstable atherosclerotic plaques, anti-inflammatory type II macrophages and upregulation of beta-2 integrins in all major arterial beds // *Atherosclerosis.* 2015. V. 242. № 1. P. 145–154.
<https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2015.06.058>
 44. Reynolds L.E., Wyder L., Lively J.C. et al. Enhanced pathological angiogenesis in mice lacking beta3 integrin or beta3 and beta5 integrins // *Nat. Med.* 2002. V. 8. № 1. P. 27–34.
<https://doi.org/10.1038/nm0102-27>
 45. Lee B.H., Bae J.S., Park R.W. et al. β ig-h3 triggers signaling pathways mediating adhesion and migration of vascular smooth muscle cells through α v β 5 integrin // *Exp. Mol. Med.* 2006. V. 38. № 2. P. 153–161.
<https://doi.org/10.1038/emm.2006.19>
 46. Weber S.N., Bohner A., Dapito D.H. et al. TLR4 deficiency protects against hepatic fibrosis and diethylnitrosamine-induced pre-carcinogenic liver injury in fibrotic liver // *PLoS One.* 2016. V. 11. № 7. P. e0158819.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158819>
 47. Çoban N., GüçlüGeyik F., Yıldırım Ö., ErginÜnaltuna N. Seramidmetabolizmasileilişkili CERS5 (LASS5) geninin endotel hücrelerinde ateroskleroz patogene zindeki

- rolünün araştırılması [Investigating the role of ceramide metabolism-associated CERS5 (LASS5) gene in atherosclerosis pathogenesis in endothelial cells] // *Turk. Kardiyol. Dern. Ars.* 2017. V. 45. № 2. P. 118–125. <https://doi.org/10.5543/tkda.2016.82389>
48. *Chen D., Qiao Y., Meng H. et al.* Genetic analysis of the TBX3 gene promoter in ventricular septal defects // *Gene*. 2013. V. 512. № 2. P. 185–188. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2012.10.066>
49. *Bennett C.E., Nsengimana J., Bostock J.A. et al.* CCAAT/enhancer binding protein alpha, beta and delta gene variants: Associations with obesity related phenotypes in the Leeds Family Study // *Diab. Vasc. Dis.* 2010. V. 7. № 3. P. 195–203. <https://doi.org/10.1177/1479164110366274>
50. *Cerda A., Amaral A.A., de Oliveira R. et al.* Peripheral blood miRome identified miR-155 as potential biomarker of metS and cardiometabolic risk in obese patients // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. № 3. P. 1468. <https://doi.org/10.3390/ijms22031468>
51. *Duan X.Y., Guo D.C., Regalado E.S. et al.* SMAD4 rare variants in individuals and families with thoracic aortic aneurysms and dissections // *Eur. J. Hum. Genet.* 2019. V. 27. № 7. P. 1054–1060. <https://doi.org/10.1038/s41431-019-0357-x>

Genetic Structure of Susceptibility to Cardiovascular Continuum Comorbidity

I. A. Goncharova^{a, *}, I. A. Koroleva^a, A. A. Sleptcov^a, T. V. Pecherina^b, V. V. Kashtalap^b,
V. P. Puzyrev^{a, c}, and M. S. Nazarenko^{a, c}

^aResearch Institut of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Science, Tomsk, 634050 Russia

^bResearch Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, 650002 Russia

^cSiberian State Medical University, Tomsk, 634050 Russia

*e-mail: irina.goncharova@medgenetics.ru

We analyzed the genetic structure of susceptibility to comorbidity of cardiovascular disease continuum (CVDC) and assessed the functional significance of genetic variants associated with pathology. Association with CVDC was showed for SNPs that form the genetic structure of predisposition to CHD complicated by MI independent of the presence/absence of risk factors, such as rs1333049 (*CDKN2B-AS1*), rs3739998 (*KIAA1462*), rs3765124 (*ADAMDEC1*), and rs1007856 (*ITGB5*). The genetic variants rs626750 (*MMP3/MMP12*), rs1991401 (*DDX5*), rs2878771 (*AQP2*), and rs2277698 (*TIMP2*) are associated with CHD and MI depending on the presence of risk factors (AH, HC, and DM2). The genetic variants rs3739998 (*KIAA1462*), rs1991401 (*DDX5*), rs2878771 (*AQP2*) are associated with MI without comorbidities; rs1333049 (*CDKN2B-AS1*), rs3765124 (*ADAMDEC1*), rs1007856 (*ITGB5*) are associated with MI + AH; rs1333049 (*CDKN2B-AS1*), rs3765124 (*ADAMDEC1*), rs1007856 (*ITGB5*), rs626750 (*MMP3/MMP12*) are associated with IM + AG + HC; and rs3739998 (*KIAA1462*), rs2277698 (*TIMP2*) are associated with “CVDC syntropy”. All CVDC-associated SNPs are cis-eQTL and affect gene expression in the tissues of CVDC target organs or change transcription factors affinity by the loss or appearance of their binding sites.

Keywords: coronary heart disease, myocardial infarction, comorbidity of the cardiovascular continuum, polymorphism, rSNPs, eQTL.

ЛАНДШАФТ АЛЬТЕРНАТИВНОГО СПЛАЙСИНГА В ДЕЦИДУАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ПЛАЦЕНТЫ ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

© 2022 г. Е. А. Трифонова^{1, 2, *}, М. М. Гавриленко¹, А. А. Бабовская¹,
А. А. Зарубин¹, М. Г. Сваровская¹, Е. В. Ижойкина³, И. А. Степанов³,
В. Н. Сереброва¹, И. Г. Куценко², В. А. Степанов¹

¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики Томского национального исследовательского
медицинского центра, Российская академия наук, Томск, 634050 Россия

²Сибирский государственный медицинский университет, Томск, 634050 Россия

³Областной перинатальный центр им. И.Д. Евтушенко, Томск, 634063 Россия

*e-mail: ekaterina.trifonova@medgenetics.ru

Поступила в редакцию 04.04.2022 г.

После доработки 15.05.2022 г.

Принята к публикации 31.05.2022 г.

Альтернативный сплайсинг (АС) РНК – ключевой этап посттранскрипционной регуляции экспрессии генов, который обеспечивает пластичность транскрипции и контроль экспрессии изоформ РНК в данный момент времени в определенном типе тканей и клеток. Предположительно, этот механизм играет важную роль в развитии и функционировании плаценты. В исследовании проведено глубокое полнотранскриптомное секвенирование с детальным анализом событий альтернативного сплайсинга в децидуальных клетках (ДК) плацентарной ткани при физиологическом течении беременности. В децидуальных клетках идентифицированы 149067 событий АС, аннотированных в GENCODE v.26, в 20463 генах, из которых 4038 генов характеризовались десятью и более изоформами. Анализ реконструированной геномной сети продемонстрировал высокую степень взаимодействий альтернативно сплайсированных генов и позволил выявить регуляторные связи, обеспечивающие координированную экспрессию большинства центральных генов, которые ассоциированы с инициацией и элонгацией трансляции у эукариот, а также модуляцией ангиогенеза и адгезии клеток, опосредованной DE-кадгеринами. Полученные результаты подтверждают важность альтернативного сплайсинга, который существенно увеличивает транскрипционное разнообразие и представляет собой значимый механизм регуляции генов в децидуальных клетках. Следует отметить, что ряд генов, подверженных АС в ДК, ассоциирован с осложнениями беременности, в связи с чем представляется актуальным дальнейшее изучение данного механизма процессинга РНК в когорте пациенток с акушерской патологией.

Ключевые слова: альтернативный сплайсинг, транскрипт, полнотранскриптомное секвенирование, плацента, децидуальные клетки, человек.

DOI: 10.31857/S0016675822100101

Альтернативный сплайсинг (АС) представляет собой посттранскрипционный регуляторный механизм, продуцирующий множественные изоформы РНК из одного предшественника мРНК. АС значительно увеличивает транскриптомное и протеомное разнообразие кодирующего генома человека и является важной составляющей регуляции экспрессии генов. Известно, что этому явлению подвержены около 95% всех генов человека [1]. Механизмы, принимающие участие в процессе АС, включают использование альтернативных донорных и акцепторных сайтов, альтернативных первого и последнего экзонов, пропуск экзонов, взаимоисключающие экзоны и удержание интронов [2]. Поскольку альтернативно сплайсированные

транскрипты одного гена могут продуцировать белки с различными функциями, в последнее десятилетие растет интерес к изучению роли данного механизма процессинга РНК в развитии заболеваний человека [3]. К примеру, была показана связь АС генов, экспрессирующихся в нервной системе, с болезнью Альцгеймера и расстройствами аутистического спектра [4]. Обнаружена ассоциация с аберрантным АС, таких многофакторных заболеваний, как сердечно-сосудистые болезни, рак различной локализации, шизофрения, преэклампсия, задержка развития плода и др. [5–8].

Несмотря на всесторонний анализ альтернативного сплайсинга пре-мРНК во многих тканях и клетках человека в норме и при патологии, ранее

не проводился глобальный скрининг изменений альтернативного сплайсинга как в целом в плацентарной ткани, так и в отдельных клеточных популяциях, формирующих ее.

Известно, что одним из решающих событий для успешной имплантации эмбриона и развития плаценты является гормонально-контролируемая дифференцировка стромальных клеток эндометрия в децидуальные клетки (ДК) и формирование децидуальной оболочки. Ряд исследований продемонстрировал ключевую роль децидуальных стромальных клеток и их микроокружения в иммунном контроле над инвазией трофобласта, процессах ремоделирования тканей и развитии плода [9, 10]. Таким образом, децидуальные стромальные клетки служат основным функциональным клеточным компонентом в децидуальной ткани плаценты, выполняя трофическую, гормональную, защитную, иммунорегуляторную и гемопоэтическую функции, в связи с чем данный тип клеток является одним из наиболее интересных объектов для исследования событий АС при беременности как с теоретической точки зрения, так и с позиции предиктивной медицины. В представленном исследовании впервые в мире проведено глубокое полнотранскриптомное секвенирование ДК плацентарной ткани с детальным анализом событий альтернативного сплайсинга при физиологическом течении беременности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведение настоящего исследования одобрено Комитетом по биомедицинской этике НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ. Материал для исследования представлен биоптатами материнской части плаценты женщин с физиологическим течением беременности ($N = 7$). Сбор биоптатов осуществлялся по стандартной методике [11] акушерами-гинекологами на базе ОГАУЗ “ОПЦ им. И.Д. Гветушенко” г. Томска. Полученный материал немедленно промывался физиологическим раствором и помещался в криопробирки, которые далее хранились в жидком азоте, чтобы свести к минимуму деградацию РНК. У всех пациентов срезы плацентарной ткани были охарактеризованы гистологически с окрашиванием гематоксилин-эозином. Лазерная микродиссекция осуществлена на оборудовании PALM (Carl Zeiss, Германия) с технологией автоматизированного захвата фрагментов (“Laser Capture Microdissection”). Для выделения тотальной РНК использован набор Single Cell RNA Purification Kit (Norgen, США). Концентрация и качество РНК были оценены с помощью Agilent 2100 Bioanalyzer. Приготовление библиотек проведено по протоколу SMARTer Stranded Total RNA-Seq Kit v2 (Takara, США). Массовое параллельное секвенирование выполнено на приборе Next-seq 2000 (Illumina).

Выравнивание на референсный геном (hg38) было выполнено с помощью программы STAR. Аннотацию транскрипционных активных областей, полученных в настоящей работе в результате секвенирования децидуальных клеток, проводили в программной среде R с использованием базы данных “gencode.v19”. Функциональный анализ последовательностей, демонстрирующих АС, проводили с помощью веб-инструмента “WebGestalt” (WEB-based Gene Set Analysis Toolkit) и базы данных “STRING” (Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins) [12, 13]. Анализ событий альтернативного сплайсинга выполнен в среде R с помощью пакета “SGSeq”, позволяющего прогнозировать и количественно оценивать события сплайсинга на основе данных полногеномного РНК-секвенирования. Профиль АС и экзонные зоны в данном подходе предсказываются из прочтений, сопоставленных с эталонным геномом, и собираются в граф, описывающий события сплайсинга. События сплайсинга идентифицируются циклично с использованием графа и оцениваются количественно на основании локальных прочтений, приходящихся на начало или конец вариантов сплайсинга [14]. Экспериментальные исследования были выполнены на базе Центра коллективного пользования научно-исследовательским оборудованием ЦКП “Медицинская геномика” НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты аннотации транскрипционных активных областей, полученных в настоящей работе, свидетельствуют, что большинство из анализируемых генов соответствуют протеинкодирующим регионам генома человека (15843). В оставшемся кластере преобладают локусы длинных некодирующих РНК и транскрибируемых непротранскрибированных псевдогенов (в табл. 1 приводятся усредненные данные по всем анализируемым образцам).

В соответствии с рекомендуемым подходом к анализу, описанному в ранее опубликованном исследовании [14], мы идентифицировали 149067 событий АС в 20463 генах. Основываясь на паттернах сплайсинга, данные события можно классифицировать на семь основных типов: альтернативный промотор, взаимоисключающие экзоны, сохранение интрона, пропуск экзона, альтернативный акцепторный сайт, альтернативный терминатор и альтернативный донорский сайт, преобладающими из которых являются сохранение интрона и пропуск экзона (рис. 1). Из более чем 20 тыс. генов, экспрессирующихся в ДК плаценты, 91% (около 18 тыс.) имели больше одной изоформы РНК, а 21% (4038 генов) – более десяти изоформ. Наибольшее количество изоформ (27) идентифицировано для гена *HNRNPH1*, кодирующего гете-

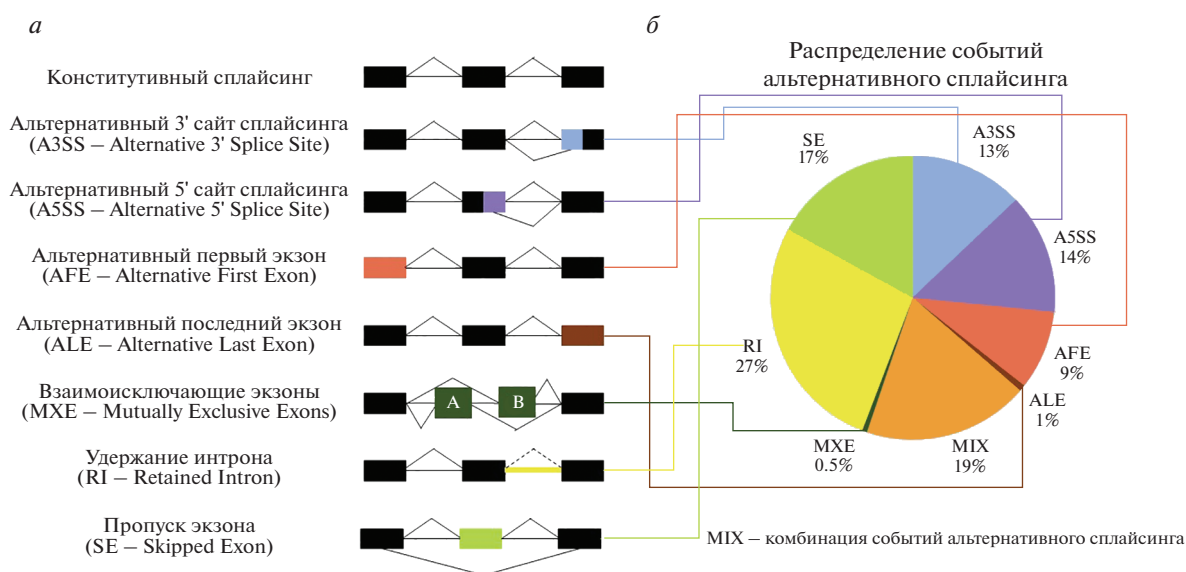
Таблица 1. Результаты аннотации транскрипционных активных областей, полученных в настоящей работе

| Идентифицированные транскрипты | Количество транскриптов |
|---|-------------------------|
| Длинные некодирующие РНК (lincRNA) | 3540 |
| МикроРНК (miRNA) | 68 |
| Неидентифицированная РНК (misc_RNA) | 8 |
| Полиморфные псевдогены (polymorphic_pseudogene) | 20 |
| Процессированные псевдогены (processed_pseudogene) | 17 |
| Белок-кодирующие (protein_coding) | 15633 |
| Малые ядрышковые РНК (snoRNA) | 2 |
| Малые ядерные РНК (snRNA) | 7 |
| Транскрибируемые процессированные псевдогены (transcribed_processed_pseudogene) | 141 |
| Транскрибируемые непроцессированные псевдогены (transcribed_unprocessed_pseudogene) | 550 |
| Транскрибируемые унитарные псевдогены (transcribed_unitary_pseudogene) | 95 |
| Непроцессированные псевдогены (unprocessed_pseudogene) | 66 |
| Транслированные процессированные псевдогены (translated_processed_pseudogene) | 1 |
| Унитарные псевдогены (unitary_pseudogene) | 2 |
| Гены вариабельной цепи иммуноглобулина (IG_(C/J/V)_gene) | 11 |
| Инактивированный ген иммуноглобулина (IG_V_pseudogene) | 4 |
| Гены вариабельной цепи Т-клеточного рецептора (TR_(C/D/J/V)_gene) | 11 |
| Инактивированный ген Т-клеточного рецептора (TR_V_pseudogene) | 1 |
| Транскрипты с неустановленной функцией (TEC) | 25 |

рогенный ядерный рибонуклеопротеин H1, представляющий собой РНК-связывающий белок, который обеспечивает субстрат для событий процессинга пре-мРНК.

Для количественной оценки обнаруженных событий АС были рассчитаны значения коэффи-

циента *PSI* (percentage spliced in); который характеризует долю каждого обнаруженного события сплайсинга во всех экспрессируемых изоформах. Экспрессия некоторых изоформ была довольно низкой ($PSI < 0.05$), и большинство событий АС не могли быть стабильно обнаружены во всех

**Рис. 1.** Основные типы событий альтернативного сплайсинга в децидуальных клетках плаценты.

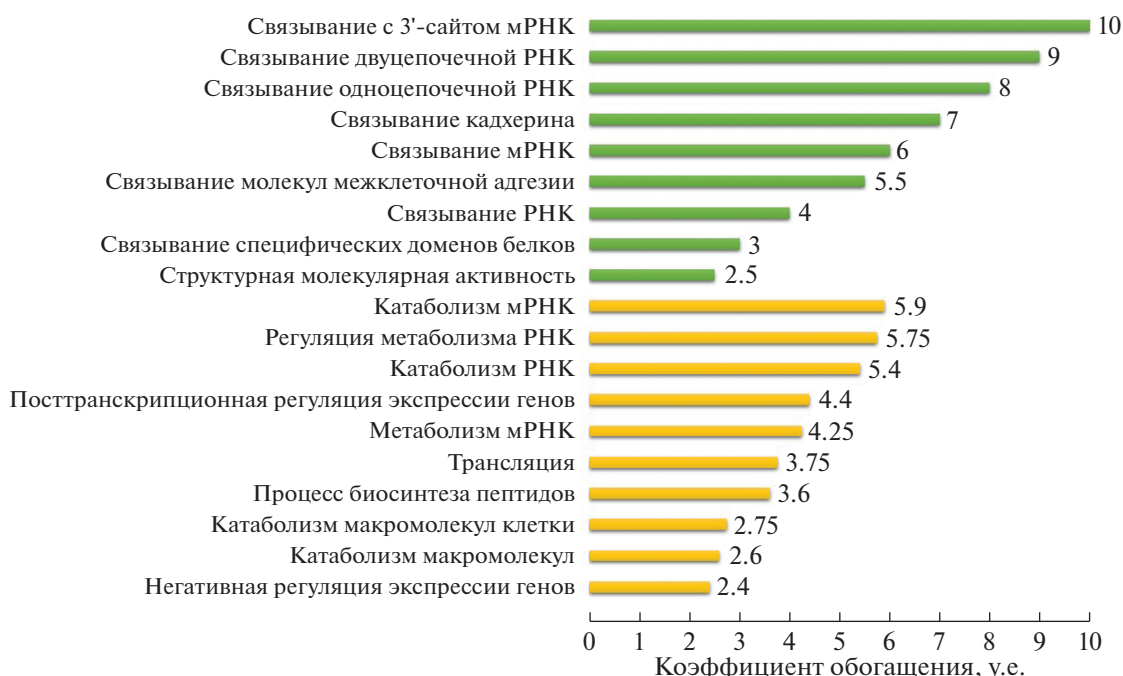


Рис. 2. Основные GO-категории, ассоциированные с кластером генов, для которых было идентифицировано более двух транскриптов, экспрессирующихся в ДК. Желтым цветом обозначены биологические процессы, зеленым – молекулярные функции.

данных образцах. Для идентификации наиболее значимых событий АС использовали следующие критерии: значение показателя *CPM* (counts per million) больше десяти, доля альтернативного транскрипта (значение коэффициента *PSI*) больше или равна 0.05 и меньше или равна 0.95. Указанным критериям соответствовал 1871 событие АС 352 генов, из них два и более транскрипта имели 312 генов, основные биологические функции и молекулярные процессы которых, согласно базы данных “GeneOntology”, статистически значимо (*false discovery rate (FDR) > 0.05*) связаны с негативной и посттранскрипционной регуляцией экспрессии генов, метаболизмом мРНК, процессом биосинтеза пептидов и катаболическим процессом макромолекул клетки, связыванием с РНК, молекулами клеточной адгезии, кадгеринами и др. (рис. 2).

В целях более детальной функциональной аннотации альтернативно сплайсированных генов нами были выбраны 158 генов, для которых были обнаружены пять и более транскриптов, экспрессирующихся в ДК (список генов доступен по запросу у авторов статьи). Анализ реконструированной с использованием программы “STRING” белок-белковой сети (рис. 3), включающей 101 продукт данных генов, свидетельствует о высокой степени их взаимодействий (более 130 парных взаимодействий имеют значения коэффициента *combined_score ≥ 0.9*).

Центральное место в построенной сети с максимальным числом и силой взаимодействий (*node_degree ≥ 10, score ≥ 0.99*) занимают следующие 17 генов: *RPS27A, HNRNPK, CTNNB1, EIF4G1, HNRNPM, ACTB, HNRNPA2B1, HNRNPH1, RPS9, RPL6, EEF1B2, RPL10, RPL15, RPL23, RPL38, RPL7A, SERBP1*, ассоциированных, согласно аннотации сигнальных путей в базах данных “KEGG” и “Reactome”, с инициацией и элонгацией трансляции у эукариот, а также регуляцией экспрессии белков *Slit* и *Robo*, обладающих множественностью разнообразных функций, включая модуляцию ангиогенеза и адгезии клеток, опосредованную DE-кадгеринами. Примечательно, что для 13 генов из данного кластера (*RPS27A, HNRNPK, HNRNPM, HNRNPA2B1, HNRNPH1, RPS9, RPL6, EEF1B2, RPL10, RPL15, RPL23, RPL38, RPL7A*) характерно явление ко-экспрессии.

Результаты функциональной аннотации кластера генов, характеризующихся экспрессией пяти и более транскриптов в ДК, демонстрируют их сверхпредставленность в процессах, связанных с каноническим сигнальным путем *Wnt/β-катенин*, регуляцией сплайсинга мРНК, убиквитинирования и формированием адгезивных контактов, что свидетельствует о важной роли альтернативно сплайсированных генов ДК в межклеточной коммуникации в плацентарной ткани, а также в механизмах эпителиально-мезенхимального перехода (табл. 2).

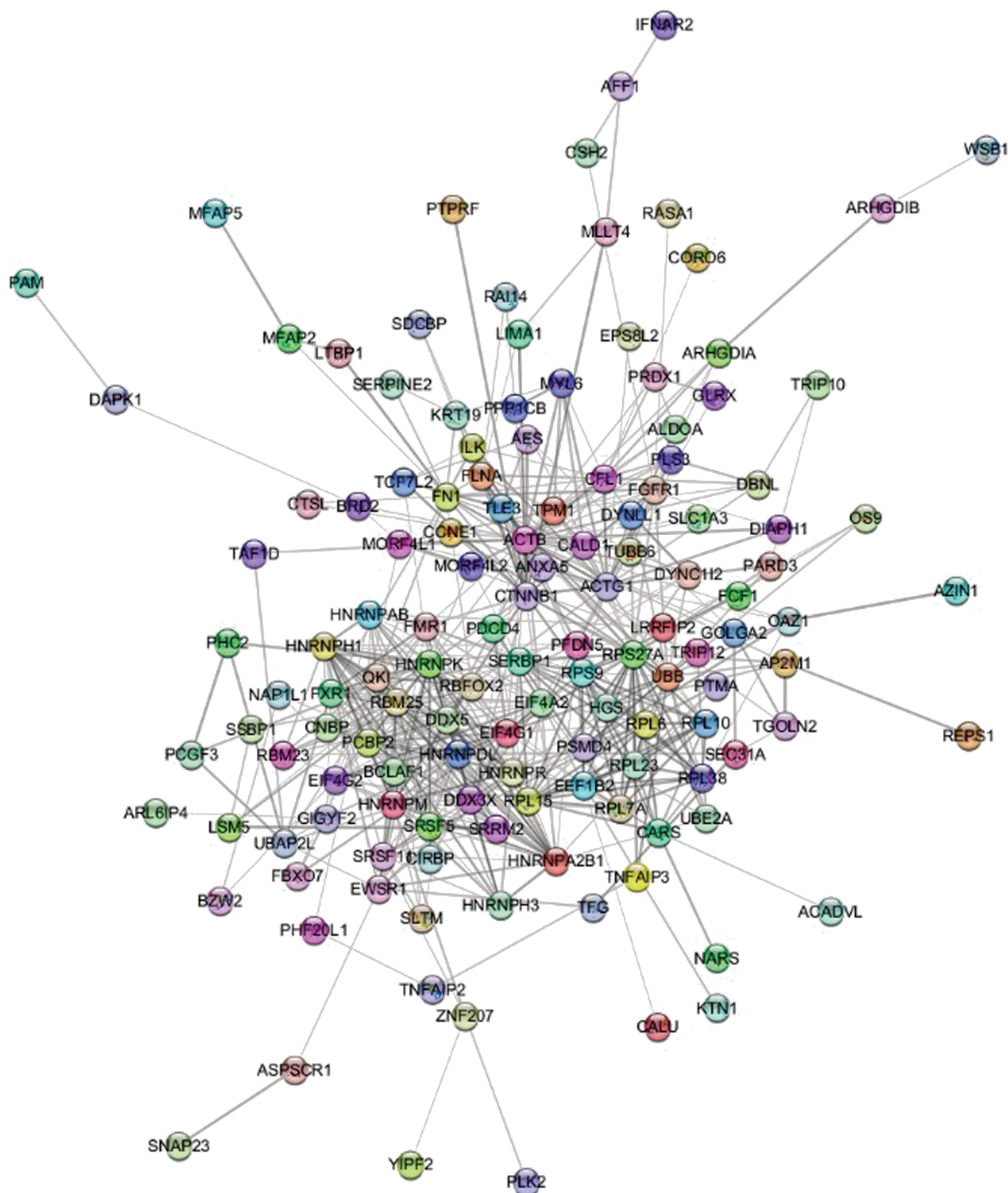


Рис. 3. Сеть белок-белковых взаимодействий продуктов альтернативно сплайсированных генов, экспрессирующихся в ДК.

Известно, что путь Wnt/ β -катенина является каноническим сигнальным путем Wnt, который регулирует несколько биологических процессов, включая пролиферацию, миграцию, инвазию и апоптоз. К настоящему времени накоплены дан-

ные, в основном полученные на животных моделях, которые демонстрируют ключевую роль этого сигнального пути в развитии плаценты, имплантации бластоцисты, а также регуляции пролиферации и инвазии клеток трофобласта

Таблица 2. Результаты функциональной аннотации кластера генов, характеризующихся экспрессией пяти и более транскриптов в ДК

| Категория | Описание | Коэффициент обогащения | FDR |
|---|---|------------------------|---------|
| Биологические процессы (Gene Ontology) | | | |
| GO:0044334 | Канонический сигнальный путь Wnt, участвующий в положительной регуляции перехода эпителиальных клеток в мезенхимальные | 2.1 | 0.0289 |
| GO:0010909 | Положительная регуляция процесса биосинтеза гепарансульфат-протеогликанов | 1.92 | 0.0415 |
| GO:1900044 | Регуляция убиквитинирования, связанного с белком k63 | 1.53 | 0.0152 |
| GO:0150105 | Локализация белка в межклеточном соединении | 1.49 | 0.0184 |
| GO:0098974 | Организация постсинаптического актинового цитоскелета | 1.4 | 0.0288 |
| GO:2000637 | Положительная регуляция подавления экспрессии генов микроРНК | 1.32 | 0.0074 |
| GO:0048024 | Регуляция сплайсинга мРНК с помощью сплайсосомы | 1.1 | <0.0001 |
| GO:0000381 | Регуляция альтернативного сплайсинга мРНК с помощью сплайсосомы | 1.08 | 0.00057 |
| Пути KEGG | | | |
| hsa04520 | Адгезивные контакты | 1.05 | 0.0028 |
| hsa04962 | Реабсорбция воды, регулируемая вазопрессином | 1.05 | 0.0321 |
| hsa05100 | Бактериальная инвазия в эпителиальные клетки | 0.95 | 0.0222 |
| hsa03010 | Рибосома | 0.88 | 0.0025 |
| hsa05205 | Протеогликаны при раке | 0.8 | 0.0021 |
| hsa03040 | Сплайсосома | 0.75 | 0.0402 |
| hsa04510 | Фокальная адгезия | 0.7 | 0.0210 |
| Пути Reactome | | | |
| HSA-9636383 | Предотвращение фагосомально-лизосомального слияния | 1.62 | 0.0040 |
| HSA-8876493 | Интерналин-опосредованное проникновение <i>Listeria monocytogenes</i> в клетки-хозяева | 1.62 | 0.0040 |
| HSA-9706377 | Усиление передачи сигналов через FLT3 в результате нарушения CBL-опосредованного подавления рецептора в раковых клетках | 1.55 | 0.0337 |
| HSA-9637628 | Модуляция <i>Mycobacterium tuberculosis</i> иммунной системы хозяина | 1.55 | 0.0337 |
| HSA-196025 | Формирование кольцевых щелевых соединений | 1.53 | 0.0059 |
| HSA-4641265 | Подавление генов-мишеней Wnt | 1.49 | 0.0072 |
| HSA-8951430 | Регулирование RUNX3 передачи сигналов Wnt | 1.49 | 0.0388 |

[15–18]. Помимо этого, нарушение экспрессии компонентов пути Wnt/ β -катенина было связано с широким спектром гестационных заболеваний у мышей [19].

Аналогично животным моделям, сбалансированное действие передачи сигналов по пути Wnt/ β -катенина критически важно и для нормальной плацентации человека. Как гиперактивация,

Таблица 3. Результаты аннотации транскрипционных активных областей, полученных в настоящей работе

| Категория | Заболевание | Коэффициент обогащения | Уровень значимости | Гены |
|-----------|---------------------------------------|------------------------|--------------------|---|
| C1275278 | Внескелетная миксоидная хондросаркома | 38.84 | 0.001 | <i>EWSR1, TFG</i> |
| C1846434 | Гипоплазия лопатки | 20.81 | <0.001 | <i>FGFR1, FLNA, ACTB</i> |
| C0027626 | Инвазивные новообразования | 5.43 | <0.001 | <i>FN1, ALDOA, CFL1, PDCD4, KRT19, ACTB, CTNNB1, CALU</i> |
| C0024668 | Новообразования молочной железы | 4.39 | <0.001 | <i>FN1, ACTG1, RPL6, PLK2, ACTB, RASA1, HNRNPAB</i> |

так и недостаточная активация передачи сигналов Wnt-пути были ассоциированы с различными репродуктивными нарушениями: снижением инвазии трофобласта, хориокарциномой, молярной беременностью, преэклампсией и невынашиванием беременности [18, 20, 23]. Механизмы, лежащие в основе данных наблюдений, предположительно связаны с ведущей ролью сигнального пути Wnt в процессах инвазии и дифференцировки трофобласта человека, опосредованной межклеточными взаимодействиями в децидуальной ткани плаценты [24]. Кроме того, обнаружено участие молекул сигнального пути Wnt в регуляции уровня ангиогенных факторов, таких как VEGF (фактор роста эндотелия сосудов), гипоэкспрессия которых является важным компонентом патогенеза осложненного течения беременности [25].

В настоящее время не вызывает сомнений ключевая роль сигнального пути Wnt/ β -катенина в опухолевой трансформации и прогрессии некоторых злокачественных новообразований [26, 27]. Данное наблюдение представляет особый интерес в контексте полученных нами результатов аннотации кластера генов, характеризующихся экспрессией пяти и более транскриптов в ДК, в базе данных “DisGeNET” на платформе веб-ресурса “WebGestalt” (табл. 3). Вышеобозначенные гены преимущественно ассоциированы с онкологическими заболеваниями, тем не менее, для двух генов показана связь с патологическим течением беременности. Так, ген *CD46* ассоциирован с развитием HELLP-синдрома (score в базе данных “DisGeNET” составил 0.330), а ген *FN1* связан с невынашиванием беременности (score = 0.300). Наряду с этим, согласно литературным данным, продукт гена *FN1* – белок фибронектин является скрининговым маркером преждевременных родов и ассоциирован с развитием преэклампсии (ПЭ) [28, 29], а однонуклеотидные полиморфные маркеры гена *CD46* ассоциированы как с ПЭ [30],

так и с идиопатическим привычным невынашиванием беременности [31].

Необходимо отметить, что проблема взаимоотношений беременности и роста злокачественных новообразований занимает особое место в современной медицине. В первую очередь интерес к данной проблеме обусловлен сходством обоих процессов по многим признакам на молекулярном, клеточно-тканевом и организменном уровнях, включая изменения нейроэндокринного, иммунного и метаболического статуса организма, сходные фенотипические свойства эмбриональных и злокачественных клеток, такие как способность к инвазивному росту, аутокринной секреции ростовых факторов, индукции микроциркуляции, “ускользанию” из-под иммунного надзора организма и другие [32]. В рамках данной проблемы особое внимание исследователей в последние годы уделяется поиску общих сигнальных путей инвазии клеток трофобласта в децидуальную ткань плаценты и процессов опухолевой инвазии. Показано, что клетки вневорсинчатого трофобласта и раковые клетки демонстрируют очень похожий молекулярный фенотип, как на уровне транскрипционной активности генов, так и на уровне метилирования промоторов [33–35]. Следует отметить, что клетки трофобласта с их способностью к пролиферации и дифференцировке, апоптозу и выживанию, миграции, ангиогенезу и иммунной модуляции, использующие в процессе инвазии сходные с раковыми процессами молекулярные пути, делают их привлекательной моделью для изучения рака.

Примечательно, что канонический Wnt-каскад, контролирующий связывание β -катенина с транскрипционными факторами TCF/LEF, является наиболее важным патогенетическим звеном в поддержании фенотипа опухоленицирующей клетки и эпителиально-мезенхимального перехода, необходимых для метастазирования опухоли [36]. Важно отметить, что формирование плаценты

начинается с прорастания ворсинок трофобласта в децидуальную оболочку матери с последующим формированием активно пролиферирующих участков – цитотрофобластических колонн, часть наиболее дистально расположенных клеток которых также претерпевает эпителиально-мезенхимальный переход и приобретает способность к миграции и инвазии. После инициации инвазии трофобласта в децидуальную оболочку начинает формироваться пул вневорсинчатого трофобласта, принимающего активное участие в ремоделировании спиральных артерий. На молекулярном уровне эпителиально-мезенхимальный переход в плаценте может реализовываться путем различных сигнальных каскадов, включая и путь Wnt/ β -катенина [37]. Примечательно, что мутации в этом каскаде ассоциированы с опухолевым ростом, участвуют в поддержании опухолеиницирующих клеток и метастазировании, а ингибиторы сигнального пути Wnt рассматриваются в качестве перспективных противопухолевых препаратов. Так, показано, что подавление экспрессии или делеции β -катенина ингибирует образование опухолеиницирующих клеток в модели хронического миелолейкоза, острой миелоцитарной лейкемии и опухолях молочной железы [36].

Современные исследования продемонстрировали, что АС РНК, является важным уровнем регуляции экспрессии генов, нарушения которого могут способствовать росту и химиорезистентности опухолевых клеток [38, 39]. В связи с этим, аномальные изменения сплайсинга пре-мРНК считаются одной из ключевых особенностей раковых клеток, а изучение АС – одним из перспективных направлений поиска потенциальных биомаркеров для диагностики злокачественных опухолей.

Сплайсинг пре-мРНК осуществляет сплайсома, представляющая собой высоко динамичную структуру, состоящую из рибонуклеопротеиновых комплексов, включающих в состав ряд малых ядерных РНК и около 200 белков [40]. Большая часть этих белков является регуляторами сплайсинга, которые контролируют выбор сайта сплайсинга посредством распознавания определенных участков пре-мРНК и определяют, какие участки должны войти в конечный транскрипт зрелой мРНК. В данном контексте интересными представляются полученные нами результаты функциональной аннотации генов, характеризующихся экспрессией пяти и более транскриптов в ДК, которые свидетельствуют об ассоциации данного кластера генов с такими биологическими процессами (Gene Ontology) и сигнальными путями KEGG как “Регуляция альтернативного сплайсинга мРНК с помощью сплайсосомы” и “Сплайсосома”.

Таким образом, представляются чрезвычайно перспективными дальнейшие исследования, характеризующие функциональную роль альтерна-

тивно сплайсированных генов в ген-генных сетях сигнального пути Wnt/ β -катенина при физиологической и патологической беременности, а также онкологических заболеваниях. Изучение альтернативного сплайсинга ДК открывает возможности для понимания формирования на уровне транскрипции тканевых и клеточных различий, путей развития различных патологических процессов, а также некоторых механизмов плацентации и канцерогенеза, что позволит обнаружить критически важные гены и сигнальные пути, которые могут служить биомаркерами и/или мишенями для разработки таргетной терапии акушерских заболеваний и злокачественных новообразований.

АС играет фундаментальную роль во многих важнейших аспектах физиологии человека, включая гомеостаз, дифференцировку клеток, а также приобретение и поддержание идентичности тканей. В настоящей работе впервые в мире проведен анализ событий альтернативного сплайсинга в децидуальных клетках плацентарной ткани человека. Полученные результаты подтверждают важность альтернативного сплайсинга, который существенно увеличивает транскрипционное разнообразие и представляет собой значимый механизм регуляции генов в децидуальных клетках. Логический анализ реконструированной генной сети продемонстрировал высокую степень взаимодействий альтернативно-сплайсированных генов и позволил выявить регуляторные связи, обеспечивающие координированную экспрессию большинства центральных генов. Центральное место в построенной сети занимают гены *RPS27A*, *HNRNPK*, *CTNNB1*, *EIF4G1*, *HNRNPM*, *ACTB*, *HNRNPA2B1*, *HNRNPH1*, *RPS9*, *RPL6*, *EEF1B2*, *RPL10*, *RPL15*, *RPL23*, *RPL38*, *RPL7A*, *SERBP1*, ассоциированные с инициацией и элонгацией трансляции у эукариот, а также модуляцией ангиогенеза и адгезии клеток, опосредованной DE-кадгеринами. Для более детального изучения АС и характеристики соотношения отдельных изоформ генов в ДК требуется выполнение дальнейшего комплексного анализа на основе данных геномного и транскриптомного секвенирования, а также количественной оценки представленности изоформ мРНК ключевых генов с применением метода ПЦР в реальном времени над которым в настоящее время и работают авторы.

Настоящее исследование показало, что ряд генов, подверженных альтернативному сплайсингу в децидуальных клетках, ассоциирован с осложнениями беременности, что обуславливает высокую актуальность дальнейшего изучения данного механизма процессинга РНК в когорте пациенток с акушерской патологией. Необходимо отметить, что продукты альтернативно сплайсированных генов по результатам функциональной аннотации и литературным данным также ассоциированы с развитием онкологических заболеваний че-

рез сигнальный путь Wnt/ β -катенина. В связи с этим, представляются чрезвычайно перспективными дальнейшие исследования, характеризующие функциональную роль AC в ген-генных сетях каскада Wnt при физиологической и патологической беременности, а также при развитии опухолевых заболеваний, что может обеспечить не только разработку новых стратегий профилактики и терапии акушерской патологии и злокачественных новообразований, но и лучшее понимание молекулярных механизмов данных патологических состояний.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ № 20-34-90128.

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национально-го комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pan Q., Shai O., Lee L.J. et al. Deep surveying of alternative splicing complexity in the human transcriptome by high-throughput sequencing // *Nature Genet.* 2008. V. 40. № 12. P. 1413–1415. <https://doi.org/10.1038/ng.259>
2. Wang E.T., Sandberg R., Luo S. et al. Alternative isoform regulation in human tissue transcriptomes // *Nature.* 2008. V. 456. № 7221. P. 470–476. <https://doi.org/10.1038/nature07509>
3. Wang G.S., Cooper T.A. Splicing in disease: disruption of the splicing code and the decoding machinery // *Nat. Rev. Genet.* 2007. V. 8. № 10. P. 749–761. <https://doi.org/10.1038/nrg2164>
4. Raj T., Li Y.I., Wong G. et al. Integrative transcriptome analyses of the aging brain implicate altered splicing in Alzheimer's disease susceptibility // *Nat. Genet.* 2018. V. 50. № 11. P. 1584–1592. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0238-1>
5. Tejedor J.R., Tilgner H., Iannone C. et al. Role of six single nucleotide polymorphisms, risk factors in coronary disease, in OLR1 alternative splicing // *RNA.* 2015. V. 6. P. 1187–1202. <https://doi.org/10.1261/rna.049890>
6. Kahles A., Lehmann K., Toussaint N.C. et al. Comprehensive analysis of alternative splicing across tumors from 8705 patients // *Cancer Cell.* 2018. V. 34. № 2. P. 211–224. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.07.001>
7. Takata A., Matsumoto N., Kato T. Genome-wide identification of splicing QTLs in the human brain and their enrichment among schizophrenia-associated loci // *Nat. Communications.* 2017. V. 8. P. 14519. <https://doi.org/10.1038/ncomms14519>
8. Ruano C.S.M., Apicella C., Jacques S. et al. Alternative splicing in normal and pathological human placentas is correlated to genetic variants // *Hum. Genet.* 2021. V. 140. № 5. P. 827–848. <https://doi.org/10.1007/s00439-020-02248-x>
9. Schatz F., Guzeloglu-Kayisli O., Arlier S. et al. The role of decidual cells in uterine hemostasis, menstruation, inflammation, adverse pregnancy outcomes and abnormal uterine bleeding // *Hum. Reprod. Update.* 2016. V. 4. P. 497–515. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmw004>
10. Brighton P.J., Maruyama Y., Fishwick K. et al. Clearance of senescent decidual cells by uterine natural killer cells in cycling human endometrium // *Elife.* 2017. V. 6. P. e31274. <https://doi.org/10.7554/eLife.31274>
11. Robson S.C., Simpson H., Ball E. et al. Punch biopsy of the human placental bed // *Am. J. Obstetrics and Gynecol.* 2002. V. 187. № 5. P. 1349–1355. <https://doi.org/10.1067/mob.2002.126866>
12. WEB-based GENE SeT AnaLysis Toolkit. <http://www.webgestalt.org/>. Accessed April, 2022.
13. Szklarczyk D., Gable A.L., Lyon D. et al. STRING v11: Protein–protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets // *Nucl. Ac. Res.* 2019. V. 47. № D1. P. D607–D613. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1131>
14. Goldstein L.D., Ca Y., Pau G. et al. Prediction and quantification of splice events from RNA-seq data // *PLoS One.* 2016. V. 11. № 5. P. e0156132. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156132>
15. Knöfler M., Pollheimer J. Human placental trophoblast invasion and differentiation: a particular focus on Wnt signaling // *Front. Genet.* 2013. V. 4. P. 190. <https://doi.org/10.3389/fgene.2013.00190>
16. Sonderegger S., Pollheimer J., Knöfler M. Wnt signalling in implantation, decidualisation and placental differentiation—review // *Placenta.* 2010. V. 31. № 10. P. 839–847. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2010.07.011>
17. Bao H., Liu D., Xu Y. et al. Hyperactivated Wnt- β -catenin signaling in the absence of sFRP1 and sFRP5 disrupts trophoblast differentiation through repression of Ascl2 // *BMC Biology.* 2020. V. 18. № 1. P. 1–14. <https://doi.org/10.1186/s12915-020-00883-4>
18. Chronopoulou E., Koika V., Tsiveriotis K. et al. Wnt4, Wnt6 and β -catenin expression in human placental tissue — is there a link with first trimester miscarriage? Results from a pilot study // *Reprod. Biol. and Endocrinology.* 2022. V. 20. № 1. P. 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12958-022-00923-4>
19. Xie H., Tranguch S., Jia X. et al. Inactivation of nuclear Wnt-beta-catenin signaling limits blastocyst competen-

- cy for implantation // *Development*. 2008. V. 135. № 4. P. 717–727.
<https://doi.org/10.1242/dev.015339>
20. Zeng X., Zhang Y., Xu H. et al. Secreted frizzled related protein 2 modulates epithelial–mesenchymal transition and stemness via Wnt/ β -catenin signaling in choriocarcinoma // *Cell. Physiol. and Biochem*. 2018. V. 50. № 5. P. 1815–1831.
<https://doi.org/10.1159/000494862>
21. Pollheimer J., Loregger T., Sonderegger S. et al. Activation of the canonical wingless/T-cell factor signaling pathway promotes invasive differentiation of human trophoblast // *Am. J. Pathol.* 2006. V. 168. № 4. P. 1134–1147.
<https://doi.org/10.2353/ajpath.2006.050686>
22. Chen Y., Zhang Y., Deng Q. et al. Wnt5a inhibited human trophoblast cell line HTR8/SVneo invasion: Implications for early placentation and preeclampsia // *J. of Maternal-Fetal & Neonatal Med.* 2016. V. 29. № 21. P. 3532–3538.
<https://doi.org/10.3109/14767058.2016.1138102>
23. Wang G., Zhang Z., Chen C. et al. Dysfunction of WNT4/WNT5A in deciduas: Possible relevance to the pathogenesis of preeclampsia // *J. Hypertension*. 2016. V. 34. № 4. P. 719–727.
<https://doi.org/10.1097/hjh.0000000000000851>
24. Hess A.P., Hamilton A.E., Talbi S. et al. Decidual stromal cell response to paracrine signals from the trophoblast: amplification of immune and angiogenic modulators // *Biol. Reprod.* 2007. V. 76. № 1. P. 102–117.
<https://doi.org/10.1095/biolreprod.106.054791>
25. Newman A.C., Hughes C.C.W. Macrophages and angiogenesis: A role for Wnt signaling // *Vascular Cell*. 2012. V. 4. № 1. P. 1–7.
<https://doi.org/10.1186/2045-824X-4-13>
26. Yang C., Iyer R.R., Albert C.H. et al. β -Catenin signaling initiates the activation of astrocytes and its dysregulation contributes to the pathogenesis of astrocytomas // *PNAS*. 2012. V. 109. № 18. P. 6963–6968.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1118754109>
27. Watanabe T., Nanamiya H., Kojima M. et al. Clinical relevance of oncogenic driver mutations identified in endometrial carcinoma // *Translational Oncology*. 2021. V. 14. № 3. P. 101010.
<https://doi.org/10.1016/j.tranon.2021.101010>
28. Honest H., Bachmann L.M., Gupta J.K. et al. Accuracy of cervicovaginal fetal fibronectin test in predicting risk of spontaneous preterm birth: Systematic review // *BMJ*. 2002. V. 325. № 7359. P. 301.
<https://doi.org/10.1136/bmj.325.7359.301>
29. Bodova K.B., Biringner K., Dokus K. et al. Fibronectin, plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) and uterine artery Doppler velocimetry as markers of preeclampsia // *Disease Markers*. 2011. V. 30. № 4. P. 191–196.
<https://doi.org/10.3233/DMA-2011-0772>
30. Banadakoppa M., Balakrishnan M., Yallampalli C. Common variants of fetal and maternal complement genes in preeclampsia: Pregnancy specific complotype // *Sci. Reports*. 2020. V. 10. № 1. P. 1–9.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-60539-9>
31. Abdi-Shayan S., Monfaredan A., Moradi Z. et al. Association of CD46 IVS1-1724 C>G single nucleotide polymorphism in Iranian women with unexplained recurrent spontaneous abortion (URSA) // *Iranian J. Allergy, Asthma and Immunol.* 2016. V. 15. № 4. P. 303–308.
32. Louwen F., Muschol-Steinmetz C., Reinhard J. et al. A lesson for cancer research: Placental microarray gene analysis in preeclampsia // *Oncotarget*. 2012. V. 3. № 8. P. 759.
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.595>
33. Smith Z.D., Shi J., Gu H. et al. Epigenetic restriction of extraembryonic lineages mirrors the somatic transition to cancer // *Nature*. 2017. V. 549. № 7673. P. 543–547.
<https://doi.org/10.1038/nature23891>
34. Macaulay E.C., Chatterjee A., Cheng X. et al. The genes of life and death: A potential role for placental-specific genes in cancer: Active retrotransposons in the placenta encode unique functional genes that may also be used by cancer cells to promote malignancy // *BioEssays*. 2017. V. 39. № 11. P. 1700091.
<https://doi.org/10.002/bies.201700091>
35. Afzal J., Maziarz J.D., Hamidzadeh A. et al. Evolution of placental invasion and cancer metastasis are causally linked // *Nat. Ecol. Evol.* 2019. V. 3. № 12. P. 1743–1753.
<https://doi.org/10.1038/s41559-019-1046-4>
36. Татарский В.В. Сигнальный путь Wnt: перспективы фармакологического регулирования // *Усп. мол. онкологии*. 2016. Т. 3. № 1. С. 28–31.
<https://doi.org/10.17650/2313-805X.2016.3.1.28-31>
37. Вишнякова П.А., Тарасова Н.В., Володина М.А. и др. Эпителиально-мезенхимальный переход в плаценте при преэклампсии // *Акушерство и гинекология*. 2016. № 12. С. 53–57.
<https://doi.org/10.18565/aig.2016.12.53-7>
38. Sebestyén E., Zawisza M., Eyras E. Detection of recurrent alternative splicing switches in tumor samples reveals novel signatures of cancer // *Nucl. Ac. Res.* 2015. V. 43. № 3. P. 1345–1356.
<https://doi.org/10.1093/nar/gku1392>
39. Martinez-Montiel N., Rosas-Murrieta N.H., Anaya Ruiz M. et al. Alternative splicing as a target for cancer treatment // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 19. № 2. P. 545.
<https://doi.org/10.3390/ijms19020545>
40. Will C.L., Lührmann R. Spliceosome structure and function // *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2011. V. 3. № 7. P. a003707.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a003707>

Alternative Splicing Landscape of Placental Decidual Cells during Physiological Pregnancy

E. A. Trifonova^{a, b, *}, M. M. Gavrilenko^a, A. A. Babovskaya^a, A. A. Zarubin^a, M. G. Svarovskaya^a, E. V. Izhoynina^c, I. A. Stepanov^c, V. N. Serebrova^a, I. G. Kutsenko^b, and V. A. Stepanov^a

^aResearch Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, 634050 Russia

^bSiberian State Medical University, Tomsk, 634050 Russia

^cEvtushenko Regional Perinatal Center, Tomsk, 634063 Russia

*e-mail: ekaterina.trifonova@medgenetics.ru

Alternative splicing (AS) of RNA is a key step in the post-transcriptional regulation of gene expression. It provides transcriptional plasticity and control of the expression of RNA isoforms in a certain type of tissues and cells at a given time. Presumably, this mechanism plays an important role in the development and functioning of the placenta. The study carried out deep whole-transcriptome sequencing with a detailed analysis of alternative splicing events in decidual cells (DC) of placental tissue during the physiological course of pregnancy. In decidual cells, 149067 AS events annotated in GENCODE v.26 were identified in 20463 genes; 4038 of these genes were characterized by 10 or more isoforms. Analysis of the reconstructed genes network demonstrated a high degree of interactions between alternatively spliced genes and revealed regulatory relationships that ensure the coordinated expression of most of the central genes associated with the initiation and elongation of translation in eukaryotes and modulation of angiogenesis and cell adhesion mediated by DE-cadherin. The obtained results confirm the importance of alternative splicing, which significantly increases transcriptional diversity and represents an important mechanism of gene regulation in decidual cells. It should be noted that a number of genes susceptible to AS in DC are associated with pregnancy complications, and therefore it seems relevant to further study this mechanism of RNA processing in a cohort of patients with obstetric pathology.

Keywords: alternative splicing, transcript, whole transcriptome sequencing, placenta, decidual cells, human.