

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ТОМСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР» РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ

ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА И ПАТОЛОГИЯ

Сборник научных трудов

Выпуск 11

Издательство
Литературное
бюро
Томск–2017

УДК 575.1:616-056.7
БББ 28.704+52.54
Г 340

Редакционный совет:

член-корр. РАН, д-р биологических наук, профессор **В.А. Степанов** (главный редактор),
академик РАН, профессор **В.П. Пузырёв**,
д-р биологических наук, профессор **А.Н. Кучер** (ответственный редактор),
д-р биологических наук, профессор РАН **И.Н. Лебедев**,
д-р медицинских наук, профессор **Л.П. Назаренко**,
к.м.н. **М.С. Назаренко**, к.б.н. **И.Ю. Хитринская**

Г 340 **Генетика человека и патология: сборник научных трудов** / под. ред. В.А. Степанова.
Вып. 11. – Томск: Литературное бюро, 2017. – 226 с.

ISBN 978-5-9908051-6-3

Сборник научных трудов приурочен к проведению XI научной конференции «Генетика человека и патология», посвященной 35-летию Научно-исследовательского института медицинской генетики Томского НИМЦ. Издание открывается очерками об истории научных подразделений института, написанными руководителями лабораторий. Сборник содержит тезисы докладов участников конференции по актуальным проблемам современной медицинской генетики и генетики человека, включая вопросы популяционной и эволюционной генетики, генетики многофакторных и онкологических заболеваний, эпидемиологии и молекулярной генетики моногенных заболеваний, экологической генетики, цитогенетики, пренатальной и преимплантационной генетической диагностики, генетики репродукции, клинической генетики и медико-генетического консультирования.

Предназначен для специалистов в области медицинской генетики и генетики человека, научных работников, преподавателей, врачей, клинических ординаторов, аспирантов и студентов.

Проведение конференции поддержано грантом РФФИ № 17-015-20007.

УДК 575.1:616-056.7
БББ 28.704+52.54

Научное издание

ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА И ПАТОЛОГИЯ

Сборник научных трудов

Выпуск 11

Ответственный за выпуск **Е.Е. Степанова**
Корректоры **Ю.П. Готфрид, Е.Г. Шумская**
Оригинал-макет **Л.Д. Кривцовой**
Дизайн обложки **Е.Ю. Хитрянской**

Подписано в печать 15.11.2017 г. Формат 60x84/8. Печать офсетная. Бумага ВХИ. Гарнитура Arial.
Печ. л. 28. Усл. печ. л. 26. Тираж 500 экз. Заказ 305.

ISBN 978-5-9908051-6-3

© НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ РАН, 2017
© ООО «Литературное бюро», макет, 2017

ПРЕДИСЛОВИЕ

В 2017 г. исполнилось 35 лет со дня основания Научно-исследовательского института медицинской генетики в г. Томске. Этому событию посвящена XI научная конференция «Генетика человека и патология», сборник трудов которой представлен Вашему вниманию.

Решение о создании Отдела медицинской генетики московского Института медицинской генетики было принято Президиумом Академии медицинских наук (АМН) СССР в октябре 1981 г., а 6 июля 1982 г. в г. Томске состоялось торжественное открытие отдела. С этой даты и берет отсчет история нашего института. Спустя пять лет, в 1987 г., на базе Отдела медицинской генетики (г. Томск) был открыт Научно-исследовательский институт медицинской генетики в качестве самостоятельного учреждения в структуре Томского научного центра АМН СССР. С июля 2016 г. НИИ медицинской генетики входит в состав Томского национального исследовательского медицинского центра (НИМЦ) Российской академии наук и по-прежнему остается единственным академическим подразделением данного профиля за Уралом.

Институт создавал и возглавлял до 2015 г. Валерий Павлович Пузырёв, приглашенный по инициативе академика РАМН Николая Павловича Бочкова, директора Института медицинской генетики (г. Москва). У истоков института стояла небольшая группа исследователей, приглашенных Валерием Павловичем из г. Новосибирска (Т.А. Абанина, О.К. Галактионов, С.В. Лемза) и г. Фрунзе (С.А. Назаренко и Л.П. Назаренко).

Институт рос, строился, развивался и превратился в один из ведущих генетических центров страны. В 1994 г. в составе института была открыта первая и до сих пор единственная в стране генетическая клиника, в структуру которой вошли отделение наследственных заболеваний (стационар), консультативно-поликлиническое отделение и клинико-диагностическая лаборатория. В 1995 г. институт переехал в новое здание в центре города на Набережной р. Ушайки, д. 10, а в 2007 г. было введено в эксплуатацию новое здание генетической клиники по адресу: г. Томск, Московский тракт, д. 3.

Символично, что 35-летний юбилей института совпал с 70-летним юбилеем его основателя – академика В.П. Пузырёва, который сейчас занимает должность научного руководителя института, а также с юбилеем профессора Людмилы Павловны Назаренко, заслуженного врача Российской Федерации, заместителя директора по научной и лечебной работе. Их вклад в развитие нашего института не оценим. Одними из ключевых событий XI конференции «Генетика человека и патология» являются их юбилейные вечерние лекции.

Исторический контекст конференции и сборника ее трудов подчеркивается и разделом «Очерки об истории научных подразделений института», открывающим этот сборник. Это написанные в свободной форме нынешними руководителями лабораторий статьи об истории развития научных исследований

в подразделениях института. Дополняет этот раздел статья об истории лаборатории цитогенетики, написанная в 2000 г. ее основателем членом-корреспондентом РАМН Сергеем Андреевичем Назаренко.

Остальные разделы сборника прекрасно иллюстрируют все многообразие направлений и современное состояние научных исследований в институте. В НИИ медицинской генетики успешно развиваются и фундаментальные исследования в таких областях, как эволюционная и популяционная генетика человека, генетика многофакторных болезней, эпигенетика, и прикладные работы в области клинической генетики, медико-генетического консультирования, пренатальной и преимплантационной диагностики наследственной патологии, ориентированные на трансляцию фундаментальных достижений в практику диагностики, лечения и профилактики болезней человека.

Многие работы, представленные в сборнике, выполнены на базе самых современных генетических, геномных и постгеномных технологий, включая массовое параллельное секвенирование, эпигеномику, транскриптомику, биоинформатику. Однако эти исследования интересны не только и не столько их технологической составляющей, сколько оригинальной концептуальной направленностью. В научных лабораториях института активно развиваются идеи научной школы академика В.П. Пузырёва и его учеников – гипотеза синтропных генов и болезней; концепции эволюционной медицины; представления о роли эпигенетических механизмов в соматической вариабельности генома при патологии ранних этапов индивидуального развития.

Органично вписываются в современные тренды развития медицинской генетики и генетики человека работы гостей конференции из других городов, представляющих все ведущие генетические научные и научно-практические центры России. Как всегда, среди участников конференции много молодых ученых и практических врачей-генетиков. Кроме докладов, тезисы которых вошли в сборник, в рамках конференции запланирован целый ряд научно-практических мероприятий – ассоциированные школы, круглые столы, симпозиумы, конкурсы. Одним из ключевых моментов XI конференции «Генетика человека и патология» является панельная дискуссия «Персональный геном и проблемы медико-генетического консультирования» с участием ведущих медицинских генетиков России.

XI конференция «Генетика человека и патология», посвященная 35-летию НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, – это и подведение итогов, и взгляд в будущее института и нашей области науки.

В.А. Степанов,
член-корреспондент РАН, профессор,
доктор биологических наук,
директор НИИ медицинской генетики
Томского НИМЦ

Раздел 1

ОЧЕРКИ ОБ ИСТОРИИ НАУЧНЫХ ПОДРАЗДЕЛЕНИЙ ИНСТИТУТА

ЛАБОРАТОРИЯ ПОПУЛЯЦИОННОЙ ГЕНЕТИКИ: ВЧЕРА И СЕГОДНЯ

М.С. Назаренко

НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

Лаборатория популяционной генетики – научное подразделение, с которого в 1982 г. началось развитие и становление всего НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ. Организатором и руководителем лаборатории до середины 2015 г. являлся Валерий Павлович Пузырёв, в момент основания – кандидат медицинских наук, а сейчас – научный руководитель НИИ медицинской генетики и Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ. В 2015 г. лабораторию популяционной генетики возглавила ученица Валерия Павловна, к.м.н. Мария Сергеевна Назаренко.

У истоков формирования научных направлений лаборатории стояли Т.А. Абанина, Л.П. Назаренко, С.В. Лемза, О.К. Галактионов, В.Б. Салюков, О.А. Салюкова. Впоследствии коллектив лаборатории пополнили М.Г. Спиридонова, Н.М. Карагеоргий, Н.А. Попова, А.Н. Кучер. В настоящее время штат лаборатории представлен ведущим научным сотрудником, 2 старшими научными сотрудниками, 5 научными сотрудниками, 2 младшими научными сотрудниками, 2 лаборантами-исследователями и 2 аспирантами.

Этапы становления лаборатории связаны с изучением генетико-демографических процессов, географией и оценкой уровня здоровья населения Сибири. В результате охарактеризована структура генофонда этнических групп Сибири и сопредельных территорий (ханты, тувинцы, алтайцы, буряты, якуты, киргизы, таджики, городское и сельское население Томской области). Это было сделано с привлечением широкого спектра маркерных систем: классических маркеров (группы крови, эритроцитарные и сывороточные белки, ферменты), квазигенетических признаков (фамилии) и молекулярно-генетических маркеров (аутосомные локусы, митохондриальный геном). Показано, что уровень генетико-демографических процессов различен для разных популяций и определяется как особенностями собственно популяционной структуры, так и социально-экономическим развитием территории. Установлено, что генофонд коренных и пришлых популяций сибирского региона представляет собой динамическую систему и сформировался в результате скоординированного взаимодействия различных демографических составляющих в пределах соответствующих групп популяций.

Далее проводилось изучение закономерностей эволюции совокупности менделирующих и количественных признаков, патогенетически значимых для

ряда многофакторных заболеваний, у коренных и пришлых жителей Сибири. Оценена вовлеченность широкого спектра полиморфных вариантов генов в детерминацию различных патологических состояний (ишемическая болезнь сердца, гипертрофия левого желудочка, инсульт, идиопатическая гипертрофическая кардиомиопатия, гипертоническая болезнь, хроническая обструктивная болезнь легких, сахарный диабет 1- и 2-го типа, рассеянный склероз, бронхиальная астма, туберкулез, хронические вирусные гепатиты, описторхоз и др.). Выявлена связь генетического полиморфизма с риском развития заболеваний, их патогенетически значимыми признаками и особенностью течения. Показано, что структура ассоциаций генетических маркеров с заболеваниями зависит от этнического происхождения индивидов, а также наличия сочетанной (коморбидной) патологии.

Еще одним направлением исследований является анализ разнообразия митохондриальной ДНК (мтДНК) в популяциях Сибири и в связи с многофакторными заболеваниями. В результате многолетних исследований охарактеризован митохондриальный генофонд наиболее многочисленных народов Сибири и Забайкалья: тувинцев, бурят, алтайцев, якутов, а также популяция русских Западной Сибири. Анализ ассоциаций популяционного полиморфизма митохондриального генома с различными многофакторными фенотипами выявил отдельные линии мтДНК, вносящие вклад в предрасположенность к определенным фенотипам сердечно-сосудистого континуума. Показано, что полиморфизм мтДНК в большей степени вносит вклад в риск развития осложнений и коморбидных фенотипов в пределах синтропии сердечно-сосудистого континуума, чем в предрасположенность к сердечно-сосудистым заболеваниям в целом.

В настоящее время основные направления научной деятельности лаборатории выходят за рамки только лишь генетики популяций, хотя неразрывно с ней связаны, прежде всего, методологией анализа, масштабностью данных, интегративным «омиксным» подходом. Основное направление научных исследований – генетика многофакторных заболеваний человека, рассматриваемая в рамках концепции синтропных и дистропных заболеваний. Поиск общих и специфических генетических маркеров позволяет выявлять новые генетические факторы риска, обладающие предиктивной и диагностической ценностью, а также новые лекарственные мишени. Изучение изменчивости на пути от генома к фенотипу проводится на всех уровнях: генетический

полиморфизм, эпигенетическое профилирование, РНК-регуляция, изменение копийности генов, взаимодействие со средовыми факторами. Исследования сосредоточены главным образом на болезнях сердечно-сосудистого континуума и инфекционно-аллергических заболеваниях.

В рамках данных направлений коллективом лаборатории выполнено более 130 научных тем, в том числе 7 основных научных тем по базовому финансированию и 5 международных грантов. Научные исследования сотрудников лаборатории поддержаны различными отечественными и международными грантами, программами и фондами, в том числе грантами Российского фонда фундаментальных исследований, Российского гуманитарного научного фонда, Президента РФ по поддержке ведущих научных школ и молодых ученых, «Здоровье человека в Сибири», ГНТП «Здоровье населения России», «Генодиагностика и генотерапия», «Геном человека», «Приоритетные направления генетики», «Борьба с наиболее распространенными болезнями», фондом INTAS, ФЦНТП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям науки и техники на 2007–2012 годы», ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009–2013 годы». В настоящее время в лаборатории выполняются гранты Фонда Фольксваген в рамках трехстороннего сотрудничества между учеными России, Украины, Германии; Российского научного фонда; Российского фонда фундаментальных исследований. Молодые ученые лаборатории получают поддержку в виде стипендии Президента РФ.

Научные разработки коллектива находят применение в практике здравоохранения. Результаты исследований по генетике многофакторных заболеваний, связанные с изучением полиморфизма генов синтаз оксида азота, генов ренин-ангиотензиновой системы, генов гемостаза, генов метаболизма ксенобиотиков, генов интерлейкинов и их рецепторов и других генных систем, послужили основой для инновационных разработок лаборатории. Среди них панели геномных маркеров подверженности к тромботическим осложнениям, бронхиальной астме, сердечно-сосудистым и другим заболеваниям, а также связанных с чувствительностью к варфарину. Научные исследования вариабельности митохондриального генома легли в основу разработки панели маркеров, которая может быть использована в криминалистике. В настоящее время в лаборатории разрабатываются панели для молекулярно-генетической диагностики митохондриальных заболеваний и дислипидемий с помощью технологии массового параллельного секвенирования ДНК. По результатам исследований коллективом лаборатории получены пять патентов и свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ.

Сотрудниками лаборатории проведено более 20 научных экспедиций в различные регионы Сибири и сопредельных территорий (Приморский, Хабаровский края, Томская область, Ямало-Ненецкий автономный округ, республики Тыва, Саха (Якутия), Бурятия, Алтай, Таджикистан и др.), в ходе которых собран богатый демографический и клинико-генетический материал, который впоследствии лег в основу биобанка тканей и ДНК института. В настоя-

щее время в коллекцию биологического материала лаборатории входит более 3 тыс. образцов крови, тканей сосудов и ДНК индивидов с различными патологиями, включая сердечно-сосудистые, аллергические, аутоиммунные, инфекционные и другие заболевания, а также ДНК представителей этнических групп Сибири и Средней Азии (русские, тувинцы, буряты, эвенки, алтайцы, якуты, сибирские татары и др.). Коллекция тканей и ДНК постоянно пополняется за счет увеличения количества образцов, расширения этнического и клинического спектра выборок.

Сотрудники лаборатории всегда стремились осваивать и использовать в научной работе различные методы. Так, для описания особенностей структуры генофонда народонаселения на первых этапах использовали классические маркерные системы (группы крови, эритроцитарные и сывороточные маркеры), а с конца 80-х гг. XX в. стали активно применять молекулярно-генетические методы, которые сейчас являются основными. В настоящее время кроме рутинных методов генотипирования (ПЦР, ПДРФ, гель-электрофорез) в лаборатории применяются количественная ПЦР в режиме реального времени, цифровая капельная ПЦР, микрочипы, секвенирование ДНК по Сэнгеру, пиросеквенирование, метод однонуклеотидного удлинения праймеров (SNaPShot), мультиплексное генотипирование с помощью масс-спектрометрии MALDI-TOF, массовое параллельное секвенирование ДНК. В лаборатории также активно развивается направление исследований, связанное с биоинформатическим анализом больших массивов клинических и молекулярно-генетических данных.

Лаборатория сотрудничает с различными научными и медицинскими учреждениями: Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Медико-генетический научный центр» (г. Москва), Медико-генетическим центром Перинатального центра ГАУ РС(Я) «Республиканская больница № 1 – Национальный центр медицины» (г. Якутск), НИИ цитологии и генетики (г. Новосибирск), НИИ онкологии Томского НИМЦ, НИИ кардиологии Томского НИМЦ, ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (г. Томск), НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (г. Кемерово). Также активно развивается международное сотрудничество с рядом научно-исследовательских центров. В их числе: Королевский колледж Лондонского университета, Университет г. Билефельд, Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины, Эстонский биоцентр Тартуского университета.

С первых дней своей деятельности лаборатория является базой для прохождения производственной практики, выполнения курсовых и дипломных работ студентами ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России и Национального исследовательского Томского государственного университета. Сотрудники лаборатории читают лекции по современным аспектам генетики многофакторных заболеваний и количественных признаков, основам популяционной генетики для студентов, интернов и ординаторов, а также слушателей курсов факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России. Научную

работу с преподаванием совмещают сотрудники лаборатории: д.б.н. А.Н. Кучер, профессор кафедры цитологии и генетики Национального исследовательского Томского государственного университета; к.м.н. М.С. Назаренко и к.м.н. Н.В. Тарасенко – ассистенты кафедры медицинской генетики ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России. Под руководством научных сотрудников лаборатории выполнено 15 докторских и 50 кандидатских диссертаций.

За годы работы научными сотрудниками лаборатории опубликовано 18 монографий и более 800 статей в отечественных и зарубежных журналах, а также в сборниках статей и материалах конференций. Результаты работы коллектива активно выно-

сятся на обсуждение научной общественностью в виде докладов на отечественных и международных конференциях. Сотрудники лаборатории имеют как личные, так и коллективные награды различного уровня, в том числе за лучшие монографии, публикации циклов статей в научных журналах.

Контактная информация:

Руководитель лаборатории популяционной генетики НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ
к.м.н. **Назаренко Мария Сергеевна**
634050, г. Томск, Набережная р. Ушайки, д. 10
Тел.: +7(3822)51-72-72
E-mail: maria.nazarenko@medgenetics.ru

ИСТОРИЯ ЛАБОРАТОРИИ ЦИТОГЕНЕТИКИ НИИ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ

С.А. Назаренко¹

Лаборатория цитогенетики была создана в структуре Томского отдела медицинской генетики московского ИМГ АМН СССР (ТИМГ) при Сибирском филиале ВОНЦ АМН СССР. Организация лаборатории была начата к.б.н. С.А. Назаренко с момента его приезда в Томск 9 декабря 1981 г. ТИМГ был открыт 12 июля 1982 г. К открытию отдела от головного института для лаборатории были получены два микроскопа и другое мелкое оборудование, а также химические реактивы. Было сформулировано научное направление работы лаборатории – цитогенетическая характеристика популяций Западной Сибири; оценка роли варибельности гетерохроматиновых районов хромосом в онтогенезе человека; структура хромосомной патологии среди различных контингентов больных и проблема фенотипических корреляций при хромосомном дисбалансе. В сентябре 1982 г. в лабораторию пришли три молодых выпускника томских вузов – Ю.Э. Бурмакина (биофак ТГУ), М.Ф. Ялова и С.А. Волгушев (медико-биологический факультет ТМИ), а также приняты М.В. Симонова и В.И. Биктимирова. Обучение новых сотрудников цитогенетическим методам были начаты С.А. Назаренко практически сразу же после их приема на работу. В сентябре 1982 г. у пациентов медико-генетической консультации были начаты первые цитогенетические исследования хромосомной патологии. К моменту первой комплексной экспедиции в Шурьшкарский район Тюменской области (ноябрь–декабрь 1982 г.) методы получения препаратов хромосом в полевых условиях были уже отработаны.

Первый же полученный при популяционно-цитогенетических исследованиях северных хантов материал позволил выявить интересный феномен – высокую частоту распространения маркерной Y-хромосомы с субтотальной делецией гетерохроматина в обследованных относительно изолированных популяциях этой северной народности (приблизительно у 20% обследованных лиц мужского пола). Этот эффект трактовался как генетический дрейф маркерной хромосомы в популяциях малой эффективной репродуктивной численности.

С 1983 г. в лаборатории были начаты прикладные исследования по оценке мутагенных эффектов производственных факторов с анализом частоты хромосомных aberrаций и уровня сестринских хроматидных обменов (СХО) у лиц, подвергающихся воздействию вредных внешнесредовых агентов. Особое внимание при этом было уделено открывшейся возможности оценки скорости пролиферации лимфоцитов человека по соотношению клеток, находящихся в различных митотических делениях. Исследование разрешающих возможностей этого метода с оценкой некоторых биологических факторов, влияющих на пролиферативную активность клеток, было поручено Ю.Э. Бурмакиной. В выполненной ею под руководством С.А. Назаренко диссертационной работе (1989) впервые был установлен факт наличия полового диморфизма скорости деления соматических клеток человека: скорость пролиферации клеток лиц мужского пола немного превышала скорость деления женских клеток. Высказано предположение, что это явление может иметь важное биологическое значение в объяснении причин полового диморфизма веса новорожденных, разной продолжительности жизни лиц разного пола и т.д. Популяционно-цитогенетические исследования, выполненные в лаборатории, позволили охарактеризовать изученные популяции по нескольким системам полиморфных хромосомных вариантов, прежде всего по Q-, C- и Ag-полиморфизму хромосом, и провести анализ их взаимосвязи с рядом количественных признаков человека. Полученные результаты были опубликованы в ряде статей и в коллективной монографии Н.В. Васильева, В.П. Пузырёва, В.Д. Подоплека, Л.Н. Рузаева, Т.А. Абаниной, С.А. Назаренко, С.В. Лемзы и Л.П. Назаренко «Комплексное клинико-генетическое исследование коренных народностей Западной Сибири» (1987).

С 1986 г. исследования лаборатории цитогенетики были сконцентрированы на проблемах цитогенетики раннего периода онтогенеза человека. В 1987 г., с момента организации НИИ медицинской генетики, ТИЦ АМН Постановлением ГКНТ СССР для

¹ Написано д.б.н., профессором С.А. Назаренко в 2000 г. Публикуется впервые.

лаборатории была сформирована основная научная задача: разработать и внедрить в практику здравоохранения новые диагностические критерии хромосомного анализа врожденных пороков развития и невынашивания беременности на основе изучения роли изменений хромосом в нормальном и патологическом развитии человека. В 1987 г. руководитель лаборатории С.А. Назаренко принял участие в работе I болгаро-советского симпозиума «Организация, проблемы и достижения медико-генетического консультирования» (Варна, НРБ), а также в работе V съезда Всесоюзного общества генетиков и селекционеров им. Н.И. Вавилова (Москва). В этом же году С.А. Назаренко с соавторами описали синдром частичной трисомии по дистальной части длинного плеча хромосомы 15 у ребенка с краниосиностозом и другими пороками развития. В 2000 г. на II Всероссийском съезде медицинских генетиков в г. Курске в докладе известного цитогенетика И.В. Лурье, работающего в настоящее время в США, это описание упоминалось как одна из первых в мировой литературе работ, указывающих на неслучайную связь трисомии хромосомы 15 с краниосиностозом.

В 1988 г. под руководством С.А. Назаренко была проведена первая пренатальная диагностика хромосомной патологии у женщины со сбалансированной робертсоновской транслокацией, имевшей высокий риск рождения ребенка с хромосомной патологией. В биоптате хориона была диагностирована трисомия по хромосоме 13 – синдром Патау, которая была подтверждена в клетках плода после прерывания беременности. В 1988 г. в группах женщин с высоким риском хромосомных нарушений были сделаны первые 10 трансцервикальных биопсий хориона с последующим цитогенетическим анализом. В 1988 г. С.А. Назаренко принял участие в работе 21-го симпозиума по цитогенетике Чехословацкого научного генетического общества (г. Прага) с докладом «Цитогенетическое исследование патологии раннего периода онтогенеза человека», а также в работе 1-го съезда медицинских генетиков Украинской ССР во Львове с докладом «Некоторые нерешенные вопросы в оценке летальных эффектов хромосомных аномалий во внутриутробном периоде развития человека». В 1989 г. лаборатория стала сотрудничать с болгарскими цитогенетиками из Высшего медицинского института Медицинской академии наук НРБ по теме «Роль хромосомного полиморфизма в эмбриональной гибели человека». В этом же году сотрудники лаборатории сделали четыре доклада на I итоговой конференции Института, а руководитель лаборатории С.А. Назаренко начал преподавательскую деятельность в должности ассистента на открытом курсе медицинской генетики по кафедре нервных болезней ТМИ.

В 1990 г. лаборатория цитогенетики получила первый грант в рамках ГНТП «Геном человека» по проекту «Создание коллекций ДНК клеток плодов и больных с хромосомной патологией и членов их семей с целью молекулярно-генетического исследования природы хромосомных заболеваний». По результатам завершившихся исследований по теме ГКНТ СССР (1987–1990 гг.) утверждены и изданы Минздравом СССР методические рекомендации «Цитогенетическое исследование abortируемого матери-

ала с целью прогноза состояния здоровья матери и потомства» (авторы С.А. Назаренко, О.Г. Карташова и Н.М. Карагеоргий). В лаборатории прошли специализацию по цитогенетике пять врачей-лаборантов цитогенетиков из Владивостока, Улан-Удэ, Иркутска, Кемерово и Целинограда. Лаборатория в рамках договора о научно-техническом сотрудничестве с НРБ приняла двух сотрудников из Болгарии – М. Цанчеву и М. Начеву (май, октябрь 1990 г.). С ответным визитом в НРБ в сентябре 1990 г. были О.Г. Карташева и Н.М. Карагеоргий. В работе III Национального конгресса по медицинской биологии и генетике в г. Варне (НРБ) и Международной школе молодых ученых по применению методов молекулярной биологии в медицине принимала участие Н.В. Островерхова. В работе 2-го съезда ВНОМГ в Алма-Ате принимали участие С.А. Назаренко и Н.В. Островерхова, которые также вместе с В.Н. Евдокимовой участвовали в работе I всесоюзной конференции «Геном человека-90» в г. Переяславле-Залесском.

В 1991 г. С.А. Назаренко принял участие в работе II всесоюзной конференции «Геном человека-91» в г. Переяславле-Залесском. Он также вошел в состав авторского коллектива изданного для студентов медицинского института методического руководства «Методические указания к курсу медицинской генетики». В Китае в журнале *Acta Genetica Sinica* вышла статья С.А. Назаренко с соавторами по исследованию связи полиморфизма гетерохроматинного блока Y-хромосомы с вариабельностью морфофизиологических признаков человека, а в ФРГ в журнале *Human Genetics* – статья С.А. Назаренко, Н.В. Островерховой и Н.К. Спурра по региональному картированию гена контроля клеточного цикла *CDC2*. В этом же году в Москве под редакцией Н.П. Кулешова выходит второе издание «Регистра хромосомных болезней человека», в котором С.А. Назаренко с соавторами описывают восемь случаев редких хромосомных нарушений, выявленных при цитогенетическом обследовании больных из томской популяции.

В феврале 1992 г. О.Г. Карташева защитила в Москве кандидатскую диссертацию, а в октябре С.А. Назаренко – докторскую. На II итоговой конференции института сотрудники лаборатории сделали два доклада. В 1993 г. Издательством ТГУ была опубликована монография С.А. Назаренко «Изменчивость хромосом и развитие человека». Сергей Андреевич принял участие в работе 3-й конференции «Геном человека» в г. Черноголовке Московской области.

В 1994 г. С.А. Назаренко принимал участие в чтении курса лекций для акушеров-гинекологов и педиатров Республики Саха. Летом этого же года институт посетил профессор П. Мале (Франция) с лекцией по применению молекулярных методов в клинической цитогенетике. Был подписан протокол о сотрудничестве лаборатории цитогенетики НИИ медицинской генетики ТНЦ СО РАМН с лабораторией гистологии, эмбриологии и цитогенетики Овернского университета г. Клермон-Феррана. В ноябре во Флоренции (Италия) состоялся международный симпозиум «Геномный импринтинг», в работе которого приняли участие В.П. Пузырёв и С.А. Назаренко с докладом о родительском происхождении моносомии X при синдроме Тернера, а в декабре – Первый

(Третий) съезд Российского общества медицинских генетиков, где от лаборатории был представлен доклад С.А. Назаренко.

29 сентября 1995 г. институт переехал в новое здание на Набережной р. Ушайки. По приглашению профессора П. Мале в сентябре С.А. Назаренко принял участие в работе 8-го международного коллоквиума цитогенетиков франкоговорящих стран с докладом по изменчивости гетерохроматиновых районов хромосом у спонтанных абортусов. Лаборатория завершила выполнение пятилетней темы НИР по институту «Молекулярно-генетическое исследование хромосомных болезней человека» и двух тем НИР по программе ГНТП «Исследование феномена хромосомного импринтинга при анализе хромосомных болезней человека» и «Исследование индивидуальной и семейной экспрессии ломких участков хромосом для целей генетической токсикологии». После подписания в декабре 1995 г. договора института с СХК «Сравнительный анализ параметров генетического здоровья жителей г. Северска и прилегающих территорий Томской области» лаборатория активно включилась в его выполнение. Существенная активизация молекулярно-цитогенетических исследований в лаборатории была достигнута благодаря приобретению институтом комплекса современного оборудования, в частности системы PowerGene-710 фирмы PSI (США).

В феврале 1996 г. С.А. Назаренко был командирован в США на фирму PSI, где осваивал работу на приборе PowerGene-710. В марте этого же года лаборатория приняла активное участие в организации и проведении школы-семинара для врачей-цитогенетиков Урала, Сибири и Дальнего Востока «Современные методы цитогенетики в практике медико-генетического консультирования» с изданием одноименного методического пособия. В марте Н.В. Островерхова приняла участие в работе 8-й конференции Немецкого общества генетиков человека (г. Геттинген, Германия), а в апреле – в 28-й встрече Европейского общества генетиков человека (г. Лондон, Англия). В апреле на заседании Президиума СО РАМН был представлен доклад С.А. Назаренко «Геномный импринтинг и наследственные болезни». В Томске в ТМИ защитила кандидатскую диссертацию Н.М. Карагеоргий. В августе 1996 г. в г. Рио-де-Жанейро состоялся 9-й международный конгресс по генетике человека, где был сделан доклад С.А. Назаренко и Н.В. Островерховой по идентификации маркерных хромосом и несбалансированных транслокаций у человека с помощью FISH-анализа. В 1996 г. лабораторией цитогенетики совместно с лабораторией молекулярной генетики был получен грант ГНТП «Здоровье населения России» по разработке и внедрению методов молекулярно-генетической диагностики и профилактики наследственных болезней в Сибири со сроком выполнения 3 года – до 1998 г. В 1996 г. лаборатория выигрывает также грант РФФИ «Выявление хромосом, подверженных импринтингу, в патологии эмбрионального развития человека» со сроком выполнения 3 года – до 1998 г.

В апреле 1997 г. С.А. Назаренко было присвоено звание «Соросовский доцент», а решением ВАК РФ от 4 июля 1997 г. – ученое звание профессо-

ра по специальности «Генетика»; он стал первым профессором НИИ медицинской генетики ТНЦ СО РАМН. В г. Москве в Медико-генетическом центре РАМН защитила кандидатскую диссертацию Н.В. Островерхова – первую по молекулярной цитогенетике человека в сибирском регионе. С.А. Назаренко принял участие в работе 29-й встречи Европейского общества генетиков человека в Генуе (Италия) с докладом по применению интерфазного FISH-анализа для оценки анеуплоидии в разных тканях здоровых индивидов. На научной конференции, посвященной 15-летию института, сотрудники лаборатории сделали семь докладов. В ноябре 1997 г. в Москве С.А. Назаренко сделал доклад о практическом использовании молекулярно-цитогенетических методов в диагностике хромосомной патологии. В 1997 г. сотрудники лаборатории опубликовали 27 работ.

В 1998 г. С.А. Назаренко принял участие в работе 30-й встречи Европейского общества генетиков человека (г. Лиссабон, Португалия) с докладом по применению интерфазного FISH-анализа для оценки анеуплоидии у больных с синдромом Тернера. В июне 1998 г. на региональной научно-практической конференции и школе-семинаре «Медицинская генетика: проблемы диагностики, профилактики и диспансеризации больных с наследственной патологией» С.А. Назаренко совместно с О.Н. Одиноквой был сделан доклад «Молекулярно-генетическая диагностика наследственных болезней человека». В 1998 г. авторский коллектив из шести человек, включая С.А. Назаренко, был удостоен премии администрации Томской области в сфере образования и науки за работу «Разработка и внедрение в практику здравоохранения новых принципов и методов оказания медико-генетической помощи населению Томской области и сопредельных территорий». В г. Томске на заседании диссертационного совета института защитила кандидатскую диссертацию Н.Н. Суханова. На научно-практической конференции института «Медицинская генетика: проблемы диагностики, профилактики и диспансеризации больных с наследственной патологией» сотрудники лаборатории сделали шесть докладов. В 1998 г. лаборатория выигрывает региональный грант РФФИ-Сибирь «Молекулярно-генетический анализ анеуплоидии в интерфазных ядрах клеток – новая тест-система в исследовании генетических эффектов загрязнений окружающей среды» со сроком выполнения 2 года – до 2000 г.

В 1999 г. сотрудники лаборатории опубликовали 25 работ, из них 3 статьи за рубежом. В Американском журнале медицинской генетики публикуется статья С.А. Назаренко с соавторами о региональном картировании рецессивного гена редкого генодерматоза *Keratosis pilaris*. Защитила кандидатскую диссертацию Т.В. Никитина. С.А. Назаренко выигран грант фонда Сороса на поездку на Вторую Европейскую цитогенетическую конференцию в г. Вене (3–6 июля 1999 г.), где совместно с Т.В. Никитиной представил доклад о результатах поиска униродительской дисомии у спонтанно погибших зародышей человека. Аспирантом лаборатории И.Н. Лебедевым был выигран грант фонда Сороса на поездку на школу молодых ученых в г. Сестри-Леванте (Италия).

В 2000 г. лаборатория выиграла грант РФФИ «Оценка частоты мутаций микросателлитных по-

второв ДНК при ранней эмбриональной гибели у человека» со сроком выполнения 3 года – до 2002 г. С.А. Назаренко выступил с докладом «Геномный импринтинг у человека: современное состояние и перспективы исследований» на Втором (Четвертом) Российском съезде медицинских генетиков в Курске (17–19 мая 2000 г.) На I Международной конференции «Проблема вида и видообразования» в г. Томске (3–5 октября 2000 г.) Т.В. Никитина сделала доклад по теме «Микросателлитная нестабильность как возможный фактор внутриутробного отбора у чело-

века». На общественных слушаниях по проблемам строительства в г. Северске атомной станции теплоснабжения АСТ-500 (15 сентября 2000 г., г. Томск) выступил С.А. Назаренко. В 2000 г. сотрудники лаборатории опубликовали 23 работы. В 2000 г. было завершено выполнение темы НИР лаборатории «Импринтинг и униродительская дисомия в патологии онтогенеза человека». На пятилетку 2001–2005 гг. утверждено выполнение темы НИР «Мутации импринтированных районов генома и микросателлитных повторов ДНК в патологии развития человека».

100 ТРУДОВ ЛАБОРАТОРИИ ЦИТОГЕНЕТИКИ НИИ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ

И.Н. Лебедев

НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

Лаборатория цитогенетики была создана в составе томского Отдела медицинской генетики Института медицинской генетики АМН СССР (г. Москва) в 1982 г. 29 декабря 1986 г. на заседании Президиума Томского научного центра АМН СССР (протокол № 3) состоялось утверждение структуры НИИ медицинской генетики как самостоятельного научного учреждения, в составе которого была обозначена лаборатория цитогенетики. Организатором лаборатории и ее руководителем до 2005 г. являлся член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, профессор Сергей Андреевич Назаренко. С 2005 г. лабораторию цитогенетики возглавляет его ученик – доктор биологических наук, профессор РАН Игорь Николаевич Лебедев.

Первая научная тема лаборатории – «Цитогенетическая характеристика популяций Западной Сибири в связи с интенсивным промышленным развитием региона» – выполнялась в 1983–1986 гг. вместе с лабораторией популяционной генетики на биологическом материале, полученном в ходе совместных экспедиций на Север. Проведенные исследования позволили охарактеризовать изученные популяции по нескольким системам полиморфных хромосомных вариантов, прежде всего по Q-, C- и Ag-полиморфизму хромосом с анализом их взаимосвязи с некоторыми количественными признаками. Результаты исследований были обобщены в коллективной монографии «Комплексное клинико-генетическое исследование коренных народов Западной Сибири», опубликованной в 1987 г. [1]. При популяционно-цитогенетических исследованиях северных хантов была обнаружена высокая частота распространения маркерной Y-хромосомы с субтотальной делецией гетерохроматинного блока (около 20% обследованных лиц мужского пола), не оказывающей влияния на репродукцию ее носителей. Данный феномен был интерпретирован с позиций явления генетического дрейфа на хромосомном уровне в популяциях с малой эффективной репродуктивной численностью [2, 3]. Позднее, в 1991 г., в Китае в журнале *Acta Genetica Sinica* были опубликованы результаты еще одной работы, в которой был проведен анализ корреляций размеров Y-гетерохроматинного блока с изменчивостью ши-

рокого спектра морфофизиологических характеристик организма [4].

Начиная с момента организации НИИ медицинской генетики как самостоятельного учреждения, в 1987 г. перед лабораторией цитогенетики была сформулирована основная научная задача: разработать и внедрить в практику здравоохранения новые диагностические критерии хромосомного анализа врожденных пороков развития и невынашивания беременности на основе изучения роли изменений хромосом в нормальном и патологическом развитии человека. Решение данной задачи предопределило тематику основных научных исследований лаборатории, сфокусированных на проблемах цитогенетики индивидуального развития и продолжающихся по настоящее время. Примечательным является тот факт, что в рамках этого магистрального направления в лаборатории были получены приоритетные данные о роли цитогенетических и эпигенетических факторов в нарушении процессов эмбрионального развития организма (числовые и структурные хромосомные нарушения [5], различные варианты хромосомного полиморфизма [6], включая CNV [7], хромосомный мозаицизм [8], геномный импринтинг и однородительские дисомии хромосом [9, 10], инактивация X-хромосомы [11], микросателлитная нестабильность ДНК [12] и ряд других), которые со временем стали основой для развития самостоятельных научных направлений и нашли свое применение для интерпретации генетических закономерностей и процессов, выходящих за временные рамки внутриутробного периода онтогенеза. Аналогичная тенденция прослеживается и в развитии арсенала цитогенетических и молекулярно-цитогенетических методов исследования, существующих сегодня на базе лаборатории. Многие из них были разработаны, апробированы и впоследствии внедрены в исследовательскую и диагностическую практику именно при анализе эмбрионального материала. Таким образом, сложившимися приоритетными направлениями научных исследований лаборатории цитогенетики стали и остаются актуальными на сегодняшний день:

1. Цитогенетика онтогенеза – установление роли изменчивости полиморфных и уникальных участков генома в нарушениях пре- и постнатального развития человека.

2. Изучение этиологии и патогенеза хромосомных болезней человека. Разработка и внедрение в практику здравоохранения молекулярно-цитогенетических методов диагностики хромосомной патологии.

3. Исследование связи между нарушением эпигенетической регуляции активности генов и патологией развития человека. Поиск и картирование участков генома, подверженных импринтингу.

4. Изучение закономерностей возникновения геномных и хромосомных мутаций в клетках человека при воздействии факторов радиационной и химической природы.

Рассмотрим кратко ключевые достижения по каждому из этих направлений, опираясь на выборку из 100 работ, опубликованных сотрудниками лаборатории за 35 лет ее существования. Еще пять ссылок в списке цитируемой литературы принадлежат публикациям, так или иначе касающимся различных сторон научной жизни лаборатории цитогенетики.

Цитогенетика индивидуального развития человека

С 1987 г. исследования лаборатории были сфокусированы на проблемах цитогенетики раннего периода онтогенеза человека, и основная научная тема в этом направлении – «Роль изменений хромосом во внутриутробной гибели организма человека», выполняемая в 1987–1990 гг., – касалась разработки новых диагностических критериев хромосомного анализа врожденных пороков развития и невынашивания беременности. По результатам проведенных исследований в 1990 г. были изданы методические рекомендации, утвержденные МЗ СССР: «Цитогенетическое исследование abortируемого материала с целью прогноза состояния здоровья матери и потомства» [13]. По настоящее время лаборатория проводит цитогенетический скрининг abortивного материала с целью установления генетических факторов, лежащих в основе нарушений ранних этапов индивидуального развития человека и невынашивания беременности, а сформированная коллекция образцов тканей спонтанных abortусов, неразвивающихся беременностей и анэмбрионий насчитывает свыше 3 тыс. образцов и является одной из крупнейших в мире. Ведущим специалистом, развивающим это одно из ключевых направлений исследований лаборатории, является к.б.н. Татьяна Владимировна Никитина. Цитогенетический анализ хромосомных препаратов осуществляет к.б.н. Елена Александровна Саженова. Ранее в работах по данному научному направлению принимали участие к.б.н. Ольга Георгиевна Карташева, к.м.н. Наталья Михайловна Карагеоргий, к.б.н. Виктория Николаевна Евдокимова, к.б.н. Наталья Нестеровна Суханова.

В результате проведенных исследований были получены данные о частоте и разнообразии летальных хромосомных мутаций. Эти данные были обобщены в докторской диссертации С.А. Назаренко «Структурно-функциональный полиморфизм хромосом в пре- и постнатальном развитии человека», подготовленной под научным консультированием академика РАМН Н.П. Бочкова и доктора медицинских наук, профессора В.П. Пузырёва и защищенной в Медико-генетическом научном центре РАМН 12 октября

1992 г. [14]. В 1993 г. по итогам проведенных исследований была издана монография «Изменчивость хромосом и развитие человека» [15]. Появление новых молекулярно-цитогенетических технологий в конце 1990-х – начале 2000-х гг., таких как FISH, CGH, aCGH, позволило расширить эти представления за счет возможности анализа образцов с низкой пролиферативной активностью клеток в культуре, недоступных ранее для классического цитогенетического исследования [7, 16–18]. Так, впервые у спонтанных abortусов первого триместра беременности были описаны моносомии по ряду аутосом, традиционно рассматриваемые как хромосомные мутации с ранним летальным эффектом, реализующимся уже на преимплантационных этапах развития [19]. Возможным объяснением наблюдаемого феномена могло быть присутствие хромосомной аномалии в мозаичном состоянии с нормальной клеточной линией, обеспечивающей возможность более продолжительного развития эмбриона, в том числе и на постимплантационных этапах. Была предложена цитогенетическая модель формирования мозаичных хромосомных вариантов в эмбриональном развитии человека [8], получившая экспериментальное подтверждение в исследовании молекулярных механизмов хромосомного нерасхождения в гаметогенезе и в соматических клетках после оплодотворения [20]. В ходе проведенных работ были установлены особенности хромосомного дисбаланса при спорадической потере беременности и при привычном невынашивании [21, 22].

Доказательства ведущей роли хромосомных мутаций в этиологии нарушений эмбриогенеза и формировании врожденных пороков развития, наряду с разработкой цитогенетических методов анализа клеток эмбрионального происхождения, явились идеологической и методологической основой для появления пренатальной диагностики. В 1988 г. под руководством С.А. Назаренко врачами акушерами-гинекологами и цитогенетиками консультативно-диагностического отделения НИИ медицинской генетики одними из первых в России была проведена пренатальная диагностика хромосомной патологии у женщины со сбалансированной робертсоновской транслокацией. В биоптате хориона была диагностирована транслокационная форма синдрома Патау 46,XX,t(13;14), которая подтвердилась в клетках плода после прерывания беременности. Информация об этой работе была представлена в материалах I итоговой конференции НИИ медицинской генетики, состоявшейся в 1989 г. [23]. Также в 1988 г. в группах женщин с высоким риском хромосомных нарушений были сделаны первые 10 трансцервикальных биопсий хориона с последующим цитогенетическим анализом. С этого времени в институте начинаются пренатальные цитогенетические исследования женщин с высоким риском хромосомных нарушений у плода, а лаборатория цитогенетики занимается обучением сотрудников медико-генетических консультаций из других регионов Сибири и Дальнего Востока цитогенетическим методам пре- и постнатальной диагностики хромосомных болезней.

Развивается и международное сотрудничество лаборатории цитогенетики в области изучения молекулярных механизмов возникновения летальных хромосомных мутаций. Так, с октября 2007 г. по но-

ябрь 2008 г. научный сотрудник лаборатории Анна Александровна Кашеварова проводила научные исследования в Университете штата Вашингтон (г. Пуллман, США) в лаборатории профессора Терри Хэссольда (Т. Hassold). Исследования были сфокусированы на изучении особенностей мейоза, синapsиса и рекомбинации у плодов с трисомией по хромосоме 21 и с триплоидией. В центре внимания была обсуждаемая в литературе гипотеза, согласно которой известный эффект зависимости рождения ребенка с синдромом Дауна от возраста матери может быть объяснен хромосомным мозаицизмом по анеуплоидии хромосомы 21 в клетках-предшественниках половых клеток. Было высказано мнение, что присутствие дополнительной хромосомы 21 замедляет темпы пролиферации клеток-предшественников, приводит к задержке мейоза и обеспечивает, таким образом, созревание яйцеклетки в более позднем репродуктивном возрасте. Однако проведенные исследования не подтвердили эту точку зрения, продемонстрировав отсутствие герминативного хромосомного мозаицизма в клетках-предшественниках не только по хромосоме 21, но и по хромосомам 13 и 16, также наиболее часто вовлекаемым в хромосомное нерасхождение в мейозе. Результаты совместной работы были опубликованы в *American Journal of Medical Genetics* в 2013 г. [24].

Заметным этапом в работе лаборатории цитогенетики стало сотрудничество с ООО «Центр репродуктивной медицины» (г. Красноярск) под руководством Анатолия Васильевича Светлакова. Это взаимодействие началось в 2004 г. и было направлено на разработку и внедрение современных методов молекулярно-цитогенетического анализа в практику преимплантационной генетической диагностики. Примечательно, что коммерческий Центр репродуктивной медицины получил академическую научно-методическую поддержку НИИ медицинской генетики под эгидой Президиума СО РАМН (Постановление Президиума СО РАМН № 81 от 19 октября 2005 г.). Проводимые совместные исследования дали возможность сконцентрироваться на более ранних этапах развития человека и получить новую информацию о разнообразии летальных хромосомных мутаций у эмбрионов на преимплантационных стадиях онтогенеза [25]. Первые совместные работы были выполнены с помощью технологии FISH, а дальнейшие исследования были направлены на разработку и оптимизацию методов полногеномной амплификации ДНК для молекулярно-цитогенетического анализа одной клетки в интересах преимплантационной генетической диагностики [26]. Накопленный опыт взаимодействия стал основой для формирования стратегически важного альянса между НИИ медицинской генетики, Центром репродуктивной медицины и Томским областным перинатальным центром, на базе которого в 2012 г. был открыт Центр репродуктивных технологий. В этом же году было приобретено оборудование для микроматричного хромосомного анализа, а научный сотрудник лаборатории цитогенетики к.м.н. Николай Алексеевич Скрябин прошел в 2012 г. стажировку в Центре геномных исследований в г. Дубай (ОАЭ) с целью освоения метода сравнительной гибридизации на ДНК-микрочипах для преимплантационно-

го генетического скрининга хромосомных мутаций. В 2014 г. такой скрининг одним из первых в России был осуществлен в лаборатории цитогенетики. Чуть ранее, в мае 2013 г., научным сотрудником лаборатории, к.б.н. Станиславом Анатольевичем Васильевым была выполнена первая преимплантационная генетическая диагностика с использованием метода FISH с набором ДНК-зондов на хромосомы 13, 18, 21, X и Y, анеуплоидия по которым приводит к хорошо известным хромосомным болезням.

Следует отметить, что сотрудничество с Центром репродуктивной медицины не ограничилось решением задач преимплантационной генетической диагностики. Так в 2007–2009 гг. в рамках выигранного конкурса и государственного контракта Федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2012 годы» были проведены совместные исследования по разработке технологии эпигенетического репрограммирования ядер дифференцированных соматических клеток с целью получения аутологичных плюрипотентных клеточных линий. Эта совместная работа стала основой для развития современных клеточных технологий в лаборатории.

Начиная с 2014 г. в лаборатории проводятся исследования внеклеточной ДНК в целомической полости бластоцисты для разработки методов неинвазивной преимплантационной генетической диагностики. Эти исследования поддержаны грантом РФФИ на период 2015–2017 гг. и также впервые в России с одними из первых в мире были начаты в альянсе с красноярским Центром репродуктивной медицины и Томским областным перинатальным центром [27]. Одним из наиболее интересных результатов еще продолжающихся в настоящее время исследований стало описание феномена реципрокных анеуплоидий, представляющих собой одновременное присутствие у эмбриона клеток с трисомией и моносомией (либо с тетрасомией и нуллисомией) по одной и той же хромосоме. Детекция такого вида хромосомного дисбаланса стала возможной благодаря сравнительному молекулярно-цитогенетическому анализу клеток разных зародышевых листков и внеклеточной ДНК в полости бластоцисты [28], при этом реципрокные хромосомные анеуплоидии были независимо подтверждены микроматричным хромосомным анализом и секвенированием нового поколения. Присутствие реципрокных анеуплоидий в эмбриональных клетках является следствием постзиготических митотических ошибок в сегрегации хромосом, что открывает новые перспективы в дифференциальной оценке вклада нарушений мейоза и митоза в возникновение хромосомного мозаицизма у эмбрионов человека.

Следует отметить, что молекулярно-цитогенетические исследования внеклеточной ДНК в лаборатории цитогенетики НИИ медицинской генетики были начаты одними из первых в России. Еще в 2006 г. была успешно защищена кандидатская диссертация аспирантки лаборатории цитогенетики А.Г. Токаревой на тему «Исследование материнской и фетальной внеклеточной ДНК при нормальной беременности и нарушениях развития плода» [29].

В настоящее время цитогенетические исследования спонтанных абортусов в лаборатории цитогене-

нетики продолжают. В фокусе внимания – редкие CNV, ассоциированные с ранней эмбриональной гибелью и привычным невынашиванием беременности. В арсенале методов – матричная сравнительная геномная гибридизация, SNP-чипы, секвенирование нового поколения. В списке партнеров – Институт молекулярной и клеточной биологии Университета г. Тарту (Эстония) и кафедра медицинской генетики медицинского факультета Университета г. Сплит (Хорватия). С последним партнером в 2016 г. в Загребе (Хорватия) издан учебник по медико-генетическому консультированию, в котором представлена глава о значимости цитогенетического обследования abortивного материала при невынашивании беременности [30].

Изучение этиологии и патогенеза хромосомных болезней человека. Разработка и внедрение в практику здравоохранения молекулярно-цитогенетических методов диагностики хромосомной патологии

Исследования хромосомного дисбаланса у человека, проводимые в лаборатории цитогенетики, не оставались ограниченными исключительно эмбриональным периодом онтогенеза, а безусловно, касались и проблем изучения и совершенствования диагностики хромосомных заболеваний. В 1980-е гг. эти задачи решались в основном с использованием классических методов хромосомного анализа, а начиная с 1990-х гг. в лаборатории получают развитие молекулярно-цитогенетические технологии, предоставившие новые возможности для целей высокоразрешающей идентификации хромосомных аномалий. Основная научная тема лаборатории, выполнявшаяся в тот период (1991–1995 гг.) – «Молекулярно-генетическое исследование хромосомных болезней человека», – была ориентирована на разработку и внедрение технологий молекулярно-цитогенетической диагностики хромосомных мутаций. Итогом ее выполнения стало описание серии редких и новых клинически значимых хромосомных мутаций, опубликованных в отечественной и зарубежной литературе. Среди множества интересных находок можно отметить региональное картирование хромосомного региона, ассоциированного с наследственным генодерматозом *Keratosis pilaris*, на коротком плече хромосомы 18 [31], упоминающееся в базе данных OMIM [32], идентификацию частичной трисомии по дистальной части длинного плеча хромосомы 15 у ребенка с краниосиностозом и другими пороками развития [33], определение тканевого мозаицизма и установление гено-фенотипических корреляций при синдроме Шерешевского–Тернера [34].

Нельзя не упомянуть и картирование гена циклин-зависимой киназы *CDC2* (по современной номенклатуре *CDK1*) в регионе 10q21 с помощью метода азотнокислого серебрения и *in situ* гибридизации на хромосомах человека [35]. Клон с последовательностью гена для проведения гибридизации был получен от Найджелла Спурра (Nigel Spurr) из лаборатории регуляции клеточного цикла в Оксфорде. Руководитель этой лаборатории Пол Нерс (Paul M. Nurse) в 2001 г. совместно с Леландом Хартвел-

лом (Leland H. Hartwell) и Тимом Хантом (Tim Hunt) был удостоен Нобелевской премии по физиологии и медицине за открытие ключевых регуляторов клеточного цикла.

Появление новых цитогенетических технологий всегда закономерно опиралось на развитие материально-технической базы института и лаборатории, с одной стороны, и на тесное сотрудничество с отечественными и зарубежными коллегами – с другой. Так, в 1995 г. были приобретены первая в России система и программное обеспечение для автоматического кариотипирования и визуализации результатов молекулярно-цитогенетических исследований PowerGene-710 (PSI, США). Освоенные и реализованные на ее базе методы FISH, CISS, CGH, интерфазного цитогенетического анализа обеспечили становление в лаборатории высокоразрешающей молекулярно-цитогенетической диагностики хромосомных болезней, в том числе и пренатальной. Первая российская публикация об использовании метода сравнительной геномной гибридизации (CGH) для молекулярного кариотипирования спонтанных абортусов была опубликована сотрудниками лаборатории цитогенетики в журнале «Генетика» в 2002 г. [16]. Регулярное взаимодействие с коллегами из Института цитологии и генетики в г. Новосибирске, и прежде всего с профессором Николаем Борисовичем Рубцовым, позволило дополнить проводимые исследования некоторыми новыми передовыми технологиями, в частности хромосомной микродиссекцией и обратной *in situ* гибридизацией [36].

С появлением молекулярно-цитогенетических технологий лаборатория начинает оказывать научно-методическую поддержку региональным медико-генетическим консультациям во внедрении и развитии этих методов. Издаются учебные пособия [37, 38], обосновываются стандарты контроля качества цитогенетических исследований в практическом здравоохранении [39]. Итогом такого межрегионального сотрудничества становится накопление данных о пациентах с редкими вариантами хромосомных перестроек, требующими применения сложных, комплексных алгоритмов диагностики с комбинацией различных молекулярно-цитогенетических методов. На решение именно такой задачи был направлен грант Швейцарского научного фонда (SNF) «Молекулярная цитогенетика», выполнявшийся в 2003–2004 гг. и объединивший цитогенетические лаборатории двух институтов с одинаковым названием (Institute of Medical Genetics) в г. Томске и Цюрихе. Директор швейцарского института, президент Европейской ассоциации цитогенетиков с 1999 по 2006 г., профессор Альберт Шинзель (Albert Schinzel) летом 2003 г. посетил в рамках этого гранта г. Томск. Совместно с профессорами С.А. Назаренко и Л.П. Назаренко на базе генетической клиники института он провел консультирование 18 семей, имеющих детей со сложными вариантами хромосомных аномалий, и определил стратегию дальнейших молекулярно-цитогенетических исследований. Выполненные совместные работы в г. Томске и Цюрихе позволили уточнить природу хромосомного дисбаланса у обследованных пациентов [40].

Следующим этапом развития молекулярно-цитогенетических исследований и диагностики стала

программа «Модернизация здравоохранения» в 2012 г., в рамках которой для генетической клиники института было приобретено специализированное оборудование для автоматизации процессов пробоподготовки и цитогенетического анализа хромосомных препаратов – системы HANABI (ADS Biotech) и Metafer (MetaSystems), а также полный пакет программного обеспечения ISIS (MetaSystems) для молекулярно-цитогенетических исследований, включая программы для FISH, mFISH, mBAND и CGH-анализа. В период с 2010 по 2014 г. в институте появляются комплекс для лазерной хромосомной микродиссекции PALM, сканер и оборудование для хромосомного микроматричного анализа Agilent Technologies, секвенатор нового поколения MiSeq, обеспечившие возможность реализации в институте всех современных методов молекулярно-цитогенетического анализа. Начиная с 2010 г., институт медицинской генетики становится базовой организацией проблемной комиссии «Цитогенетика и хромосомные болезни» Межведомственного научного совета РАМН по медицинской генетике, а ее председателем – руководитель лаборатории д.б.н. И.Н. Лебедев. В 2012 г. под редакцией академиков РАМН Н.П. Бочкова, Е.К. Гинтера и В.П. Пузырёва выходит в свет национальное руководство по наследственным болезням, в котором И.Н. Лебедевым были написаны две главы, посвященные вопросам хромосомных заболеваний и методам их цитогенетической диагностики [41, 42]. В 2017 г. вышло второе издание этого руководства [43, 44].

Заметным этапом в развитии научных и клинико-диагностических исследований в лаборатории цитогенетики стало участие института в гранте 7-й Рамочной программы Европейского союза по теме «Улучшение диагностики умственной отсталости у детей из стран Центральной и Восточной Европы и Центральной Азии через генетическую характеристику и биоинформационную статистику (CHERISH)». Проект выполнялся в период с 2009 по 2012 г. и объединил коллективы научно-исследовательских институтов и университетов Италии, Чехии, Польши, Эстонии, Литвы, Кипра, Украины, Армении и России. Задачей проекта стала апробация новых технологий молекулярно-цитогенетического (array-CGH) и молекулярно-генетического анализа (экзомное секвенирование) для выявления генетических причин недифференцированных форм умственной отсталости. Проектом были охвачены около 1 500 детей из стран-участниц, в том числе 206 пациентов, обследованных на базе генетической клиники института медицинской генетики в г. Томске. Молекулярно-цитогенетические исследования с использованием микроматричного хромосомного анализа выполнялись на базе трех центров – в Университете г. Болоньи (координатор проекта), Университете г. Тарту (Эстония) и институте медицинской генетики в г. Томске. Участие в проекте и взаимодействие с европейскими партнерами позволили внедрить и развить в Томске микроматричный хромосомный анализ и количественную ПЦР в режиме реального времени для оценки вариабельности в числе копий хромосомных регионов (CNV), отработать алгоритмы клинической и молекулярно-генетической диагностики недифференцированных форм интеллектуальных

нарушений, описать ряд новых интересных случаев микроструктурных хромосомных мутаций, ассоциированных с умственной отсталостью, у пациентов, обследованных по разработанным алгоритмам, как в ходе реализации самого проекта [45–47], так и уже после его завершения [48, 49]. Итоги участия в проекте CHERISH и перспективы развития данного научного направления обсуждались в докладах руководителя лаборатории цитогенетики И.Н. Лебедева на заседаниях Президиума СО РАМН (г. Новосибирск, Постановление № 33, протокол № 3 § 1 от 27 марта 2013 г.), бюро Отделения медицинских наук РАН (г. Москва, Постановление № 61, протокол № 10 от 23 сентября 2015 г.), в пленарном докладе «Архитектура генома и хромосомные болезни» на VII съезде Российского общества медицинских генетиков (г. Санкт-Петербург, 19–23 мая 2015 г.).

Микрочиповая технология, успешно апробированная для диагностики генетических причин интеллектуальных нарушений, оказалась востребованной для решения других научных и практических задач как в самой лаборатории цитогенетики, так и в других структурных подразделениях НИИ медицинской генетики (лаборатория популяционной генетики, генетическая клиника) и Томского НИИ онкологии. Причем исследования были выполнены не только на уровне оценки CNV, но и на уровне анализа характера метилирования ДНК и экспрессии генов. За последние годы было опубликовано несколько интересных работ, порой выходящих за рамки непосредственно цитогенетики и посвященных проблемам эпигенетики эмбрионального развития [50–52], пренатальной и преимплантационной генетической диагностики [7, 53], вопросам генетики и эпигенетики атеросклероза [54, 55] и онкологических заболеваний [56–58].

Говоря о перспективах исследований хромосомного дисбаланса нельзя не отметить участие лаборатории цитогенетики в реализации гранта Российского научного фонда «Клеточные и молекулярные механизмы патогенеза хромосомных болезней», выполнявшегося под руководством профессора РАН в 2014–2016 гг. и получившего поддержку РФНФ на продолжение исследований в 2017–2018 гг. Это проект, реализация которого была бы невысказима без сотрудничества с лабораторией генетики развития (в настоящее время – отделом молекулярных механизмов онтогенеза) в Институте цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск) под руководством доктора биологических наук, профессора Олега Леонидовича Серова. Идея проекта заключалась в оценке изменений в активности генов, затронутых хромосомными перестройками у человека. Для этих целей были получены линии индуцированных плюрипотентных стволовых клеток от пациентов с уникальными микроструктурными хромосомными мутациями, обследованных нами в ходе выполнения проекта CHERISH. Уникальность мутаций заключалась в том, что у пациентов с умственной отсталостью в одной семье делеция в хромосомном субсегменте 3p26.3 затрагивала единственный ген *CNTN6*, а в другой семье была описана дупликация того же самого гена у ребенка с нарушениями интеллекта, причем дупликация передавалась в трех поколениях от клинически здоровых бабушки и отца ребенка [47]. Для изучения активности гена при разнонаправленных

изменениях его копийности индуцированные плюрипотентные стволовые клетки были дифференцированы *in vitro* в нейроны. Оказалось, что в нейронах как у пациентов, так и у здоровых доноров наблюдается преимущественная экспрессия гена *CNTN6* с хромосомы материнского происхождения. При этом в случае с дупликацией удвоенный участок генома отцовского происхождения практически не экспрессируется, несмотря на увеличенную вдвое дозу гена. Вероятно, нарушение структуры хромосомы при хромосомной перестройке оказывает влияние на активность гена и приводит фактически к его гаплонедостаточности. Результаты исследования позволяют объяснить сходство некоторых клинических признаков пациентов с так называемыми синдромами реципрокных хромосомных микроделеций и микродупликаций [59], связанных с разнонаправленными изменениями в копийности определенных участков хромосом.

Другим направлением продолжающихся совместных исследований, поддержанных еще одним грантом РНФ под руководством старшего научного сотрудника лаборатории к.б.н. А.А. Кашеваровой на период 2016–2018 гг., является разработка технологий так называемого хромосомного редактирования, заключающихся в коррекции хромосомных дефектов в индуцированных плюрипотентных стволовых клетках. Эти работы ведутся на линиях клеток пациентов с кольцевыми хромосомами [60]. Кроме того, создаются специальные генетические конструкции, способные интегрироваться в хромосому с мутацией и замкнуть ее в кольцо. Интерес к кольцевым хромосомам не случаен и связан с появляющейся информацией о нестабильном поведении таких хромосом в индуцированных плюрипотентных стволовых клетках и их элиминации. Последующая дупликация оставшегося нормального гомолога может привести к восстановлению нормального числа хромосом в клетке. Если таким процессом научиться управлять, то это может открыть перспективы коррекции крупных хромосомных дефектов, так называемой хромосомной терапии.

Вопросами молекулярно-цитогенетической диагностики хромосомных болезней в лаборатории занимались к.б.н. Надежда Васильевна Островерхова, к.б.н. Владимир Анатольевич Тимошевский, м.н.с. Александр Дмитриевич Черемных. В настоящее время это направление развивают к.м.н. Николай Алексеевич Скрябин (микроматричный хромосомный анализ, лазерная хромосомная микродиссекция, секвенирование нового поколения), к.б.н. Анна Александровна Кашеварова (детекция CNV с помощью количественной ПЦР в режиме реального времени), к.б.н. Станислав Анатольевич Васильев (FISH-метод и его модификации).

Исследование связи между нарушением эпигенетической регуляции активности генов и патологией развития человека. Поиск и картирование участков генома, подверженных импринтингу

С 1994 г. в лаборатории начинаются исследования проблем неканонического наследования у человека. Обзор этих проблем был представлен профессором С.А. Назаренко на страницах монографии В.П.

Пузырёва, В.А. Степанова «Патологическая анатомия генома человека», опубликованной в 1997 г. [61, 62]. По мнению М.Д. Голубовского, высказанному в его монографии «Век генетики: эволюция идей и понятий», вышедшей в свет в 2000 г., этот обзор представлял собой «впечатляющий репертуар неканонического наследования множества патологий» [63]. По существу, это была первая в России сводка информации о наследственных болезнях человека, связанных с неменделевскими механизмами наследования. Чуть ранее, в 1994 г., на Первом (Третьем) съезде Российского общества медицинских генетиков, состоявшемся в Москве, был представлен первый по проблеме неканонического наследования отечественный доклад С.А. Назаренко «Геномный импринтинг при наследственных болезнях человека» [64]. А 20–22 ноября 1994 г. директор института В.П. Пузырёв и руководитель лаборатории цитогенетики С.А. Назаренко приняли участие в работе международного симпозиума «Геномный импринтинг и новые подходы к идентификации и картированию генных синдромов», состоявшегося во Флоренции (Италия), где было представлено сообщение о родителем происхождении единственной X-хромосомы у пациентов с синдромом Шерешевского–Тернера [65]. В 1996 г. на заседании Президиума СО РАН в г. Новосибирске С.А. Назаренко выступил с докладом «Геномный импринтинг и наследственные болезни».

Начатые в те годы работы лаборатории цитогенетики были сфокусированы на изучении роли нарушений импринтированных локусов генома и динамических мутаций в патологии пре- и постнатального развития организма. Так, одно из направлений исследований, поддержанное первым в лаборатории грантом РФФИ «Выявление хромосом, подверженных импринтингу, в патологии эмбрионального развития человека» (1996–1998 гг.), было связано с оценкой селективной значимости однополого наследования хромосом как формы изменений дозы импринтированных генов на ранних этапах внутриутробного развития. Однако проведенные исследования, равно как и немногочисленные зарубежные работы в этом направлении, не продемонстрировали заметного вклада феномена однополого наследования (ОРД) в раннюю эмбриональность у человека [9, 10].

Позднее была высказана гипотеза, что предполагаемый селективный эффект нарушений импринтированных локусов генома может быть реализован не через редкие события аномалий сегрегации хромосом в мейозе и митозе, необходимые для формирования ОРД, а через аномалии эпигенетического статуса импринтированных генов – эпимутации, связанные с нарушением характера метилирования функционально значимых CpG-сайтов в промоторных и регуляторных областях импринтированных генов [66]. Это предположение нашло подтверждение как в наших исследованиях статуса метилирования отдельных импринтированных генов [67, 68], так и в более поздних работах, проведенных с использованием микрочиповых технологий [51, 52]. Применение «широкогеномного» подхода позволило заметить, что нарушения статуса метилирования нередко затрагивают несколько импринтированных

генов одновременно, отражая, по всей видимости, системную разбалансировку процессов установления и поддержания геномного импринтинга в раннем эмбриогенезе. Примечательно, что частота и разнообразие так называемых множественных дефектов метилирования импринтированных генов нарастают при привычном невынашивании беременности, указывая на возможное носительство в некоторых семьях мутаций в генах, ответственных за регуляцию геномного импринтинга. Перспективы исследований, проводимых в лаборатории цитогенетики в этом направлении, связаны с поиском мутаций в ряде генов (*NLRP7*, *NLRP2*, *ZFP57* и некоторых других), предположительно вовлеченных в установление и поддержание моноаллельной импринтированной экспрессии.

Исследования нарушений импринтированных локусов генов, равно как и хромосомных мутаций, о чем писалось выше, не остались ограниченными проблемами пренатального развития. В лаборатории цитогенетики были проведены работы, позволившие установить спектр молекулярной изменчивости кластера импринтированных генов хромосомы 15 у пациентов с классическими болезнями геномного импринтинга – синдромами Прадера–Вилли и Энгельмана в Западно-Сибирском регионе России [69]. Были исследованы гено-фенотипические корреляции при различных типах мутаций импринтированных генов [70]. Разработаны алгоритмы молекулярно-генетической диагностики заболеваний, связанных с нарушениями функций импринтированных генов. Лаборатория приняла участие в международном проекте по валидации панели референсных образцов ВОЗ для молекулярно-генетической диагностики синдромов Прадера–Вилли и Энгельмана [71].

Функционально близким к явлению импринтинга процессом является инактивация X-хромосомы, обеспечивающая дозовую компенсацию X-сцепленных генов у женщин. Аномалии равновероятной инактивации X-хромосомы обсуждаются в литературе как одна из возможных эпигенетических причин остановки эмбрионального развития (если нарушения обнаруживаются в эмбриональных клетках) или привычного невынашивания беременности (если такие нарушения есть в соматических клетках самой женщины) [72, 73]. Исследования, проведенные в лаборатории цитогенетики, в целом поддерживают эти гипотезы [11, 74]. Более того, в наших работах впервые была продемонстрирована зависимость нарушений инактивации X-хромосомы у спонтанных абортусов с мозаичными трисомиями по хромосоме 16 от числа анеуплоидных клеток, указывая на наличие аутосомных трансрегуляторных факторов, возможно CTCF (16q22.1), вовлеченных в регуляцию X-инактивации [75].

Кроме изучения проблем геномного импринтинга и инактивации X-хромосомы в лаборатории проводились исследования и других эпигенетических феноменов. В частности, у населения Сибири впервые были определены особенности молекулярного полиморфизма области тринуклеотидных повторов некоторых генов, динамические мутации которых лежат в основе болезней экспансии тринуклеотидных повторов [76, 77]. Особое внимание было уделено синдрому Мартина – Белл, экспансия CGG-повторов

при котором сопровождается метилированием и инактивацией гена *FMR1*, связанного с развитием одной из самых распространенных форм X-сцепленной умственной отсталости [78]. Разработана и внедрена в практику молекулярно-генетическая диагностика данного заболевания.

Кроме того, в лаборатории исследованы эпигенетические механизмы, обуславливающие возникновение хромосомных мутаций и нестабильности генома при патологии эмбрионального развития. Они были обобщены в докторской диссертации И.Н. Лебедева «Эпигенетические модификации генома в эмбриональном периоде онтогенеза человека», защищенной 19 ноября 2008 г. в Институте цитологии и генетики СО РАН в г. Новосибирске [79]. Охарактеризованы аномалии метилирования ряда генов клеточного цикла и мобильного генетического элемента LINE-1 у эмбрионов с хромосомной патологией, в том числе в мозаичном состоянии [80–82]. В совместных исследованиях с лабораторией популяционной генетики института выявлен ряд генов, эпигенетический статус которых при атеросклерозе изменяется в соответствии с гипотезой парадоминантного наследования [83]. Ведущими специалистами, развивающими в настоящее время в лаборатории цитогенетики исследования в области эпигенетики, являются к.б.н. Елена Александровна Саженова (работы по геномному импринтингу) и к.б.н. Екатерина Николаевна Толмачёва (анализ характера инактивации X-хромосомы, оценка статуса метилирования мобильных генетических элементов в геноме).

Изучение закономерностей возникновения геномных и хромосомных мутаций в клетках человека при воздействии факторов радиационной и химической природы

Исследование проблем мутагенеза всегда оставалось в поле приоритетных научных интересов основателя лаборатории цитогенетики профессора С.А. Назаренко. Одним из источников этого интереса, несомненно, являлась научная школа академика РАМН Николая Павловича Бочкова, под руководством которого аспирант С.А. Назаренко выполнил и защитил в 1977 г. в Институте медицинской генетики АМН СССР в г. Москве кандидатскую диссертацию на тему «Комбинированное действие химических мутагенов на хромосомы человека» [84]. Задачей исследования являлось определение характера взаимодействия двух химических мутагенов, производных этиленимина – тиофосфамида и дипина, применявшихся в онкологической практике для лечения некоторых злокачественных опухолей. В ходе работы было установлено, что при отдельном или совместном действии соединений на хромосомы лимфоцитов человека наблюдаемый эффект по всем цитогенетическим показателям не подчиняется линейной зависимости от концентрации мутагенов, а с изменением соотношения между тиофосфамидом и дипином, при постоянном суммарном числе их молекул, величина цитогенетического эффекта зависит прямо пропорционально от доли каждого мутагена в комбинации [84]. Таким образом, впервые была продемонстрирована аддитивность мутагенного действия двух химических соединений при

учете нелинейной зависимости эффекта от концентрации веществ. Это показало несостоятельность господствовавших в то время представлений о возможности проверки гипотезы об аддитивности взаимодействия соединений путем простого суммирования их индивидуальных эффектов. В диссертации был предложен оригинальный метод оценки комбинированного действия химических мутагенов на хромосомы человека и получены математические уравнения, адекватно описывающие регистрируемые цитогенетические эффекты.

Практически с самого основания лаборатории цитогенетики, с 1983 г., в ней были начаты исследования по оценке мутагенных эффектов производственных факторов у лиц, профессионально контактирующих с вредными внешнесредовыми агентами. Были отработаны методы учета частоты хромосомных аберраций и сестринских хроматидных обменов, изучены особенности темпов пролиферации лимфоцитов периферической крови человека, находящихся на разных стадиях митотического деления. Результаты этих исследований были обобщены в первой кандидатской диссертации, выполненной в лаборатории цитогенетики Юлией Эдуардовной Бурмакиной, «Цитогенетическая оценка межиндивидуальной вариабельности скорости пролиферации ФГА-стимулированных лимфоцитов человека», защищенной в 1988 г. в Институте медицинской генетики АМН СССР в г. Москве [85].

Накопленный опыт генотоксикологических исследований оказался востребованным для оценки последствий радиационного инцидента, произошедшего 6 апреля 1993 г. на Сибирском химическом комбинате в г. Северске, расположенном рядом с областным центром. Свежие воспоминания о событиях, связанных с Чернобыльской катастрофой, создали в то время напряженную обстановку в обществе, поставившую под сомнение перспективы развития стратегически важной для региона и страны отрасли. При поддержке губернатора Томской области Виктора Мельхиоровича Кресса и генерального директора Сибирского химического комбината (СХК) Геннадия Петровича Хандорина институт получает задание на проведение генетической экспертизы последствий инцидента как для работников предприятия, так и для жителей г. Северска, Томска и прилегающих территорий. В декабре 1995 г. был заключен договор с СХК на проведение научно-исследовательских работ по теме «Сравнительный анализ параметров генетического здоровья жителей г. Северска и прилегающих территорий». Эти работы были выполнены по четырем направлениям исследований, охватывающим популяционный, организменный, клеточный и молекулярный уровни организации живых систем. Во-первых, был проведен ретроспективный популяционный мониторинг наследственных болезней за 30-летний период в г. Северске и Томске. Во-вторых, была оценена распространенность врожденных пороков развития среди 200 тыс. новорожденных детей. В-третьих, были изучены частота и спектр хромосомных аберраций у работников предприятия, непосредственно контактирующих в своей профессиональной деятельности с источниками радиационного излучения, а также у жителей обследуемых населенных пунктов.

Наконец, еще один блок работ был посвящен анализу мутаций минисателлитных повторов ДНК, при этом он был выполнен в сотрудничестве с кафедрой генетики Университета Лестера (Великобритания). В целом проведенные исследования не продемонстрировали заметных генетических эффектов у населения, проживающего вблизи предприятия ядерно-химического комплекса. С результатами этой масштабной работы можно подробно ознакомиться в монографии С.А. Назаренко, Н.А. Поповой, Л.П. Назаренко и В.П. Пузырёва «Ядерно-химическое производство и генетическое здоровье», опубликованной в 2004 г. [86]. В предисловии к монографии новый генеральный директор Сибирского химического комбината В.В. Шидловский отметил, что итоги исследования помогут лучше понять степень экологической безопасности предприятий атомной отрасли, а также послужат необходимой основой для разработки адекватных мероприятий по охране здоровья не только персонала СХК, но и, возможно, аналогичных предприятий России.

Этот тезис не остался без внимания, и на протяжении нескольких последующих лет была проведена серия совместных с СХК научно-исследовательских работ, посвященных цитогенетическому мониторингу работников различных производств предприятия, имеющих профессиональный контакт с различными источниками радиационного излучения, химическими агентами или их комбинацией [87]. Следует отметить, что чуть ранее, в конце 1990-х гг., лаборатория приняла участие в комплексных генетико-эпидемиологических исследованиях населения Якутии, в том числе в экологически неблагоприятных регионах [88].

Кроме практической значимости проведенные изыскания способствовали и развитию научных исследований в лаборатории. Так, например, были изучены кластогенный и анеугенный эффекты ионизирующих излучений [89–91]. Были разработаны и апробированы молекулярно-цитогенетические подходы к тестированию мутагенного воздействия производственных факторов на персонал ядерно-химического комплекса [92, 93]. В лаборатории были освоены и внедрены такие специфические методы генотоксикологического анализа, как комет-тест и микроядерный тест в комбинации с FISH на цитокинез-блокированных клетках. Работы по цитогенетической оценке внешнесредовых мутагенных воздействий проводились научными сотрудниками лаборатории к.б.н. Натальей Алексеевной Поповой и к.б.н. Владимиром Анатольевичем Тимошевым. Принимали в них участие и сотрудники клинично-диагностической лаборатории генетической клиники института – к.б.н. Юлия Сергеевна Яковлева, к.б.н. Елена Олеговна Васильева, Светлана Леонидовна Вовк, Наталья Борисовна Торхова. В настоящее время ответственным исполнителем работ по данному направлению является с.н.с., к.б.н. Станислав Анатольевич Васильев. После его стажировки в Институте экспериментальной онкологии в г. Братиславе (Словакия) в 2010 г. список методов оценки мутагенных эффектов был дополнен методом иммунофлуоресцентной детекции фокусов белков репарации двунитевых разрывов ДНК [94–97].

Со временем арсенал внедренных методов оказался востребован не только в сфере атомной

энергетики, но и в области практической онкологии, прежде всего для мониторинга эффектов лучевой терапии. Совместно с коллегами из Томского НИИ онкологии были проведены работы по оценке цитогенетических эффектов нейтронной терапии у пациентов с раком молочной железы, опухолями головы и шеи [98, 99], а также импульсно-периодического рентгеновского излучения в системе *in vitro* [100]. Тесное научное сотрудничество со специалистами НИИ онкологии отражено в совместных публикациях по вопросам молекулярной генетики [101] и цитогенетики [102], эпигенетики [103] и генетической гетерогенности опухолей [58, 104]. Перспективы исследований связаны с анализом дифференциальной экспрессии генов у индивидов с различной радиочувствительностью и возможностью управления ею с применением технологий редактирования генома.

В заключение хотелось бы отметить, что в наступивший период массового применения высокопроизводительных технологий геномного секвенирования все чаще с трибун научных конгрессов и конференций звучит тезис о закате цитогенетики. С одной стороны, взгляд на хромосому как на некоторую последовательность нуклеотидов определенного участка генома, по мнению самих же цитогенетиков, ознаменует не просто начало нового периода, а начало «последней и финальной эры цитогенетики» [105]. С другой стороны, никто не оспаривает существования хромосомного уровня организации наследственной информации со своими законами наследственности и изменчивости. В дни своего юбилея, оглядываясь на пройденный путь и опираясь на накопленный опыт, лаборатория цитогенетики с уверенностью смотрит в будущее.

Основные научные темы лаборатории цитогенетики

- 1983–1986 гг. «Цитогенетическая характеристика популяций Западной Сибири в связи с интенсивным промышленным развитием региона».
- 1987–1990 гг. «Роль изменений хромосом во внутриутробной гибели организма человека».
- 1991–1995 гг. «Молекулярно-генетическое исследование хромосомных болезней человека».
- 1996–2000 гг. «Импринтинг и униродительская дисомия в патологии онтогенеза человека».
- 2001–2005 гг. «Мутации импринтированных районов генома и микросателлитных повторов ДНК в патологии развития человека».
- 2006–2012 гг. «Эпигенетические механизмы возникновения геномных мутаций в патологии эмбрионального развития человека».
- 2013–2020 гг. «Эпигенетический компонент соматической вариабельности генома при патологии ранних этапов онтогенеза человека».

Персональные достижения и награды сотрудников лаборатории цитогенетики

1. Назаренко Сергей Андреевич – профессор по специальности «Генетика» (1997 г.).
2. Назаренко Сергей Андреевич – Соросовский доцент (1997 г.).
3. Назаренко Сергей Андреевич – член-корреспондент РАМН (2004 г.).
4. Лебедев Игорь Николаевич – грант Президента РФ (2005–2006 гг.).
5. Лебедев Игорь Николаевич – профессор РАН (2016 г.).
6. Лебедев Игорь Николаевич – лауреат премии Томской области в сфере образования, науки, здравоохранения и культуры в номинации «Премии научным и научно-педагогическим работникам, внесшим значительный личный вклад в развитие науки и образования» (2016 г.).
7. Васильев Станислав Анатольевич – лауреат премии Томской области в сфере образования, науки, здравоохранения и культуры в номинации «Премии молодым научным и научно-педагогическим работникам, специалистам, докторантам и аспирантам» (2016 г.).
8. Васильев Станислав Анатольевич – стипендия Президента РФ (2015–2017 гг.).
9. Кашеварова Анна Александровна – грант Фонда Fulbright (2007–2008 гг.).
10. Кашеварова Анна Александровна – лауреат премии Томской области в сфере образования, науки, здравоохранения и культуры в номинации «Премии молодым научным и научно-педагогическим работникам, специалистам, докторантам и аспирантам» (2016 г.).
11. Скрыбин Николай Алексеевич – победитель конкурса разработок молодых ученых в номинации «Биомедицина» в рамках форума U-NOVUS 2017 (2017 г.).

Сотрудники лаборатории цитогенетики (2017 г.)

Лебедев Игорь Николаевич – *руководитель лаборатории цитогенетики, доктор биологических наук, профессор РАН.*

Васильев Станислав Анатольевич – *старший научный сотрудник, кандидат биологических наук.*

Кашеварова Анна Александровна – *старший научный сотрудник.*

Никитина Татьяна Владимировна – *научный сотрудник, кандидат биологических наук.*

Саженова Елена Александровна – *научный сотрудник, кандидат биологических наук.*

Скрыбин Николай Алексеевич – *научный сотрудник, кандидат медицинских наук.*

Толмачёва Екатерина Николаевна – *научный сотрудник, кандидат биологических наук.*

Контактная информация:

Руководитель лаборатории цитогенетики
НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ

д.б.н., профессор РАН

Лебедев Игорь Николаевич

634050, г. Томск, Набережная р. Ушайки, д. 10
Тел.: +7(3822) 51-31-46. Факс: +7(3822) 51-37-44

E-mail: igor.lebedev@medgenetics.ru

**Диссертации, выполненные
на базе лаборатории цитогенетики**

1. *Бурмакина Юлия Эдуардовна*. Цитогенетическая оценка межиндивидуальной вариабельности скорости пролиферации ФГА-стимулированных лимфоцитов человека. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.15 – «Генетика». Научный руководитель – к.б.н. С.А. Назаренко. 1988 г.
2. *Карташева Ольга Георгиевна*. Полиморфизм ядрышко-образующих районов хромосом у медицинских и спонтанных абортусов. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.15 – «Генетика». Научный руководитель – к.б.н. С.А. Назаренко. 1992 г.
3. *Назаренко Сергей Андреевич*. Структурно-функциональный полиморфизм хромосом в пре- и постнатальном развитии человека. Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.00.15 – «Генетика». Научный консультант – член-корр. РАН В.П. Пузырёв. 1992 г.
4. *Карагеоргий Наталья Михайловна*. С-полиморфные варианты хромосом в механизме нарушения эмбрионального развития человека. Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.00.15 – «Генетика». Научный руководитель – д.б.н., проф. С.А. Назаренко. 1996 г.
5. *Островерхова Надежда Васильевна*. Молекулярно-цитогенетическое исследование структурных хромосомных перестроек в практике медико-генетического консультирования. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.15 – «Генетика». Научные руководители – д.б.н., проф. С.А. Назаренко, член-корр. РАН, д.м.н., проф. В.П. Пузырёв. 1997 г.
6. *Суханова Наталья Нестеровна*. Молекулярно-генетический анализ и фенотипическое проявление чистых и мозаичных форм синдрома Шерешевского–Тернера. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.15 – «Генетика». Научный руководитель – д.б.н., проф. С.А. Назаренко. 1998 г.
7. *Никитина Татьяна Владимировна*. Исследование однородительской дисомии и микросателлитной нестабильности при ранней эмбриональной гибели человека. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.15 – «Генетика». Научный руководитель – д.б.н., проф. С.А. Назаренко. 1999 г.
8. *Евдокимова Виктория Николаевна*. Исследование связи инактивации X-хромосомы с эмбриолетальностью у человека. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.15 – «Генетика». Научный руководитель – д.б.н., проф. С.А. Назаренко. 2000 г.
9. *Яковлева Юлия Сергеевна*. Частота и спектр хромосомных нарушений у работников ядерно-химического производства и населения сопредельных территорий. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.15 – «Генетика». Научный руководитель – д.б.н., проф. С.А. Назаренко. 2000 г.
10. *Толмачёва Екатерина Николаевна*. Молекулярно-генетическая характеристика двух локусов синдрома ломкой X-хромосомы у жителей Западно-Сибирского региона. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.15 – «Генетика». Научный руководитель – д.б.н., проф. С.А. Назаренко. 2001 г.
11. *Лебедев Игорь Николаевич*. Молекулярно-цитогенетическая характеристика хромосомных аномалий при анэмбрионии и неразвивающейся беременности. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.15 – «Генетика». Научный руководитель – д.б.н., проф. С.А. Назаренко. 2001 г.
12. *Тимошевский Владимир Анатольевич*. «Молекулярно-цитогенетическое исследование уровня анеуплоидии в интерфазных ядрах клеток человека». Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.15 – «Генетика». Научный руководитель – д.б.н., проф. С.А. Назаренко. 2002 г.
13. *Саженова Елена Александровна*. Молекулярная изменчивость кластера импринтированных генов хромосомы 15 у больных с синдромами Прадера–Вилли и Энгельмана. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.15 – «Генетика». Научный руководитель – д.б.н., проф. С.А. Назаренко. 2003 г.
14. *Ахмадшин Александр Юрьевич*. Эпидемиология врожденных пороков развития в Сургутском районе Ханты-Мансийского автономного округа: оценка эффективности дородовой диагностики и профилактики. Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.00.15 – «Генетика». Научный руководитель – член-корр. РАН, д.б.н., проф. С.А. Назаренко. 2004 г.
15. *Токарева Анастасия Григорьевна*. Исследование материнской и фетальной внеклеточной ДНК при нормальной беременности и нарушениях развития плода. Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.00.15 – «Генетика». Научные руководители – член-корр. РАН, д.б.н., проф. С.А. Назаренко, к.б.н. И.Н. Лебедев. 2006 г.
16. *Лебедев Игорь Николаевич*. Эпигенетические модификации генома в эмбриональном периоде онтогенеза человека. Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.00.15 – «Генетика». Научные консультанты – академик РАН, проф. В.П. Пузырёв, член-корр. РАН, проф. С.А. Назаренко. 2008 г.
17. *Васильев Станислав Анатольевич*. Действие малых доз инкорпорированного плутония-239 на частоту анеуплоидии в соматических клетках человека. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «Генетика». Научный руководитель – д.б.н. И.Н. Лебедев. 2010 г.
18. *Кашеварова Анна Александровна*. Цитогенетическая характеристика и эпигенетические механизмы формирования хромосомного мозаицизма при нарушении эмбрионального развития человека. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «Генетика». Научный руководитель – д.б.н. И.Н. Лебедев. 2010 г.
19. *Скрябин Николай Алексеевич*. Роль хромосомных нарушений и аберрантного метилирования ДНК в развитии геномной нестабильности при раке молочной железы. Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.07 – «Генетика». Научные руководители – д.м.н. М.В. Завьялова, д.б.н. И.Н. Лебедев. 2011 г.
20. *Матвеев Ольга Альбертовна*. Характеристика хромосомных нарушений в эпителиальных клетках при хроническом гастрите и раке желудка. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «Генетика». Научные руководители – д.б.н., проф. Л.Н. Уразова, д.б.н. И.Н. Лебедев. 2013 г.
21. *Мельников Александр Александрович*. Цитогенетические эффекты нейтронной терапии у больных злокачественными новообразованиями. Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.07 – «Генетика». Научные руководители – академик РАН, проф. Е.Л. Чойнзонов, д.б.н. И.Н. Лебедев. 2013 г.
22. *Беленко Андрей Александрович*. Цитогенетические и физиологические эффекты гамма-излучения и импульсно-периодического рентгеновского излучения в соматических клетках человека. Диссертация на соискание

ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.07 – «Генетика», 03.03.01 – Физиология. Научные руководители – д.б.н., проф. РАН И.Н. Лебедев, д.б.н., проф. М.А. Большаков. 2016 г.

Литература

1. Васильев Н.В., Пузырёв В.П., Подоплекин В.Д., Рузаев Л.Н., Абанина Т.А., Назаренко С.А., Лемза С.В., Назаренко Л.П. Комплексное клинико-генетическое исследование коренных народностей Западной Сибири. Томск: Изд-во Том. ун-та, 1987. 165 с.
2. Назаренко С.А., Пузырёв В.П. Высокая частота субтотальной делеции гетерохроматина Y-хромосомы у нижеобских хантов // Генетика. 1984. Т. 20, № 9. С. 1549–1553.
3. Nazarenko S.A., Puzyrev V.P. Genetic drift of marker Y-chromosome del(Y)(q12) in Khanty from lower Ob river // Human Genetics. 1985. V. 71, № 2. P. 100–102.
4. Nazarenko S.A., Puzyrev V.P., Lemska S.V. Y-chromosome heterochromatin and human morphophysiological variability // Acta Genetica Sinica. 1991. V. 18, № 5. P. 424–430.
5. Суханова Н.Н., Лебедев И.Н., Никитина Т.В., Саженова Е.А., Назаренко С.А. Структура хромосомных нарушений у 552 спонтанных абортусов Томской популяции // Медицинская генетика. 2002. Т. 1, № 6. С. 271–276.
6. Назаренко С.А., Карагеоргий Н.М. Межканевые различия С-полиморфных районов хромосом и эмбрионов человека: возможная роль метилирования ДНК // Генетика. 1995. Т. 31, № 11. С. 1578–1581.
7. Лебедев И.Н., Кашеварова А.А., Скрябин Н.А., Никитина Т.В., Лопаткина М.Е., Мельников А.А., Саженова Е.А., Иванова Т.В., Евтушенко И.Д. Матричная сравнительная геномная гибридизация (агау-СГН) в диагностике хромосомного дисбаланса и CNV-полиморфизма при анембрионии // Журнал акушерства и женских болезней. 2013. Т. 62, вып. 2. С. 117–125.
8. Лебедев И.Н., Назаренко С.А. Тканеспецифичный плацентарный мозаицизм по аутосомным трисомиям у спонтанных абортусов человека: механизмы формирования и фенотипические эффекты // Генетика. 2001. Т. 37, № 11. С. 1459–1474.
9. Евдокимова В.Н., Назаренко С.А. Отсутствие однородительского наследования X-хромосом у спонтанных абортусов с 46,XX-кариотипом // Онтогенез. 2000. Т. 31, № 3. С. 201–204.
10. Никитина Т.В., Саженова Е.А., Суханова Н.Н., Лебедев И.Н., Назаренко С.А. Оценка роли однородительской дисомии в ранней эмбриональной летальности человека // Онтогенез. 2004. Т. 35, № 4. С. 238–246.
11. Толмачёва Е.Н., Васильев С.А., Саженова Е.А., Жигалина Д.И., Григорович Э.И., Никитина Т.В., Мельников А.А., Жабина Е.С., Иванова Т.В., Евтушенко И.Д., Лебедев И.Н. Асимметричная инактивация X-хромосомы у внутриутробно погибших эмбрионов человека // Цитология. 2015. Т. 57, № 11. С. 808–812.
12. Никитина Т.В., Лебедев И.Н., Суханова Н.Н., Назаренко С.А. Гаметические мутации тетраплектидных последовательностей ДНК в норме и патологии раннего периода онтогенеза человека // Генетика. 2005. Т. 41, № 7. С. 770–778.
13. Назаренко С.А., Карташева О.Г., Карагеоргий Н.М. Цитогенетическое исследование abortируемого материала с целью прогноза состояния здоровья матери и потомства: методические рекомендации МЗ СССР. М., 1990. 16 с.
14. Назаренко С.А. Структурно-функциональный полиморфизм хромосом в пре- и постнатальном развитии человека: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М.: МГНЦ РАМН, 1992. 45 с.
15. Назаренко С.А. Изменчивость хромосом и развитие человека. Томск: Изд-во Том. ун-та, 1993. 200 с.
16. Островерхова Н.В., Назаренко С.А., Лебедев И.Н., Черемных А.Д., Никитина Т.В., Суханова Н.Н. Детекция анеуплоидии у спонтанных абортусов методом сравнительной геномной гибридизации // Генетика. 2002. № 12. С. 1435–1442.
17. Лебедев И.Н., Островерхова Н.В., Никитина Т.В., Суханова Н.Н., Назаренко С.А. Молекулярно-цитогенетическая характеристика хромосомного дисбаланса в клетках спонтанных абортусов с низкой пролиферативной активностью *in vitro* // Генетика. 2003. Т. 39, № 8. С. 1112–1122.
18. Lebedev I.N., Ostroverkhova N.V., Nikitina T.V., Sukhanova N.N., Nazarenko S.A. Features of chromosomal abnormalities in spontaneous abortion cell culture failures detected by interphase FISH analysis // European Journal of Human Genetics. 2004. V. 12, № 7. P. 513–520.
19. Лебедев И.Н., Назаренко С.А. Особенности фенотипической экспрессии аутосомных моносомий при патологии постимплантационного развития человека // Онтогенез. 2004. Т. 35, № 1. С. 53–60.
20. Lebedev I.N. Mosaic aneuploidy in early fetal losses // Cytogenetic and Genome Research. 2011. V. 133, № 2–4. P. 169–183.
21. Никитина Т.В., Лебедев И.Н. Цитогенетика привычного невынашивания беременности // Генетика. 2014. Т. 50, № 5. С. 501–514.
22. Nikitina T.V., Sazhenova E.A., Tolmacheva E.N., Sukhanova N.N., Kashevarova A.A., Skryabin N.A., Vasilyev S.A., Nemtseva T.N., Yuriev S.Y., Lebedev I.N. Comparative cytogenetic analysis of spontaneous abortions in recurrent and sporadic pregnancy losses // Biomedicine Hub. 2016. 1. P. 46099.
23. Лаврова Л.И. Синдром Патау, диагностированный в первом триместре беременности // Генетика человека и патология: материалы I итоговой конференции НИИ медицинской генетики / Под ред. В.П. Пузырёва. Томск: Изд-во Том. ун-та, 1989. С. 20–21.
24. Rowsey R., Kashevarova A., Murdoch B., Dickenson C., Woodruff T., Cheng E., Hunt P., Hassold T. Germline mosaicism does not explain the maternal age effect on trisomy // American Journal Medical Genetics. Part A. 2013. V. 161A, № 10. P. 2495–2503.
25. Артюхова В.Г., Лебедев И.Н., Маркова Е.В., Светлаков А.В. Структура числовых хромосомных нарушений и особенности их фенотипических эффектов на преимплантационных этапах развития человека // Медицинская генетика. 2009. Т. 8, № 2. С. 19–24.
26. Лебедев И.Н., Черемных А.Д., Назаренко С.А., Светлаков А.В. Полногеномная амплификация ДНК: современные достижения и перспективы использования в преимплантационной генетической диагностике // Проблемы репродукции. 2005. Т. 5. С. 60–67.
27. Скрябин Н.А., Лебедев И.Н., Артюхова В.Г., Жигалина Д.И., Степанов И.А., Кривошекова Г.В., Светлаков А.В. Молекулярное кариотипирование по внеклеточной ДНК из жидкости бластоцелла как основа неинвазивного преимплантационного генетического скрининга анеуплоидий // Генетика. 2015. Т. 51, № 11. С. 1301–1307.
28. Жигалина Д.И., Скрябин Н.А., Артюхова В.Г., Светлаков А.В., Лебедев И.Н. Распространение реципрокных анеуплоидий на преимплантационном этапе развития на основе данных молекулярного кариотипирования внеклеточной ДНК бластоцисты // Медицинская генетика. 2016. Т. 15, № 4. С. 46–49.
29. Токарева А.Г. Исследование материнской и фетальной внеклеточной ДНК при нормальной беременности и нарушениях развития плода: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Томск, 2006. 22 с.
30. Lebedev I.N. Cytogenetika probačaja (Cytogenetics of spontaneous abortions) // Genetičko informiranje u praksi (Genetic information in practice) / eds. V. Čulič, J. Pavelič, M. Radman. Zagreb.: Medicinska Naklada, 2016. P. 259–263.
31. Nazarenko S.A., Ostroverkhova N.V., Vasiljeva E.O., Nazarenko L.P., Puzyrev V.P., Malet P. Keratosis pilaris and ulerythema ophryogenes associated with an 18p deletion caused by a Y/18 translocation // American Journal of Medical Genetics. 1999. V. 85. P. 179–182.

32. База данных «Менделеевское наследование у человека» (OMIM). <http://omim.org/entry/604093>
33. Назаренко С.А., Назаренко Л.П., Баранова В.А. Трисомия по дистальному участку 15q, обусловленная семейной сбалансированной транслокацией t(15;16)(q24;p13) и необычный мозаицизм у матери пробанда // Цитология и генетика. 1987. Т. 21, № 6. С. 434–437.
34. Nazarenko S.A., Timoshevsky V.A., Sukhanova N.N. High frequency of tissue specific mosaicism in Turner syndrome patients // *Clinical Genetics*. 1999. V. 56, № 1. P. 59–65.
35. Nazarenko S.A., Ostroverkhova N.V., Spurr N.K. Regional assignment of the human cell cycle control gene *CDC2* to chromosome 10q21 by *in situ* hybridization // *Human Genetics*. 1991. V. 87. P. 621–622.
36. Ostroverkhova N.V., Nazarenko S.A., Rubtsov N.B., Nazarenko L.P., Bunina E.N. Characterization of a small supernumerary ring marker derived from chromosome 2 by forward and reverse chromosome painting // *American Journal of Medical Genetics*. 1999. V. 87, № 3. P. 217–220.
37. Назаренко С.А., Яковлева Ю.С. Цитогенетика человека и хромосомные болезни // Методическое пособие. Томск: STT, 2001. 83 с.
38. Назаренко С.А., Саженова Е.А. Однородительские дисомии и болезни геномного импринтинга: учеб.-метод. пособие. Томск: Печатная мануфактура, 2004. 38 с.
39. Назаренко С.А., Васильева Е.О. Тест-система внешнего контроля качества цитогенетических исследований в учреждениях медико-генетической службы: пособие для врачей. Томск: Печатная мануфактура, 2003. 34 с.
40. Nazarenko S., Sazhenova E., Baumer A., Schinzel A. Segmental maternal heterodisomy of the proximal part of chromosome 15 in an infant with Prader-Willi syndrome // *European Journal of Human Genetics*. 2004. V. 12, № 5. P. 411–414.
41. Лебедев И.Н. Методы цитогенетической диагностики хромосомных болезней // Наследственные болезни: национальное руководство / под ред. Н.П. Бочкова, Е.К. Гинтера, В.П. Пузырёва. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. Гл. 17. С. 453–478.
42. Лебедев И.Н. Хромосомные болезни // Наследственные болезни: национальное руководство / под ред. Н.П. Бочкова, Е.К. Гинтера, В.П. Пузырёва. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. Гл. 22. С. 555–609.
43. Лебедев И.Н. Методы цитогенетической диагностики хромосомных болезней // Наследственные болезни: национальное руководство / под ред. Е.К. Гинтера, В.П. Пузырёва. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. Глава 4. С. 71–91.
44. Лебедев И.Н. Хромосомные болезни // Наследственные болезни: национальное руководство / под ред. Е.К. Гинтера, В.П. Пузырёва. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. Гл. 10. С. 201–228.
45. Кашеварова А.А., Скрябин Н.А., Черемных А.Д., Толмачёва Е.Н., Саженова Е.А., Салюкова О.А., Четчикина Н.Н., Диденко Л.И., Суханова Н.Н., Яковлева Ю.С., Торхова Н.Б., Назаренко Л.П., Magini P., Graziano C., Romeo G., Лебедев И.Н. Клинико-генетическая характеристика недифференцированной умственной отсталости на основе матричной сравнительной геномной гибридизации // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2013. Т. 113, № 9. С. 70–74.
46. Kashevarova A.A., Nazarenko L.P., Skryabin N.A., Salyukova O.A., Chechetkina N.N., Tolmacheva E.N., Sazhenova E.A., Magini P., Graziano C., Romeo G., Kučinskas V., Lebedev I.N. Array CGH analysis of a cohort of Russian patients with intellectual disability // *Gene*. 2014. V. 536, № 1. P. 145–150.
47. Kashevarova A.A., Nazarenko L.P., Schultz-Pedersen S., Skryabin N.A., Salyukova O.A., Chechetkina N.N., Tolmacheva E.N., Rudko A.A., Magini P., Graziano C., Romeo G., Joss Sh., Tümer Z., Lebedev I.N. Single gene microdeletions and microduplication of 3p26.3 in three unrelated families: *CNTN6* as a new candidate gene for intellectual disability // *Molecular Cytogenetics*. 2014. V. 7. P. 97.
48. Lebedev I.N., Nazarenko L.P., Skryabin N.A., Babushkina N.P., Kashevarova A.A. A *de novo* microtriplication at 4q21.21-q21.22 in a patient with a vascular malignant hemangioma, elongated sigmoid colon, developmental delay, and absence of speech // *American Journal of Medical Genetics. Part A*. 2016. V. 170A, № 8. P. 2089–2096.
49. Беляева Е.О., Назаренко Л.П., Кашеварова А.А., Скрябин Н.А., Лебедев И.Н. Микродупликация 12q24.12 у пациента с фармакорезистентной эпилепсией и задержкой развития // *Медицинская генетика*. 2016. Т. 15, № 4. С. 6–9.
50. Толмачёва Е.Н., Кашеварова А.А., Скрябин Н.А., Лебедев И.Н. Профиль метилирования ДНК в плацентарных тканях человека // *Молекулярная биология*. 2011. Т. 45, № 3. С. 538–545.
51. Саженова Е.А., Скрябин Н.А., Суханова Н.Н., Лебедев И.Н. Мультилокусные эпимутации импринтома при патологии эмбрионального развития человека // *Молекулярная биология*. 2012. Т. 46, № 2. С. 204–213.
52. Саженова Е.А., Никитина Т.В., Скрябин Н.А., Минайчева Л.И., Иванова Т.В., Немцева Т.Н., Юрьев С.Ю., Емтушенко И.Д., Лебедев И.Н. Эпигенетический статус импринтированных генов в плаценте при привычном невынашивании беременности // *Генетика*. 2017. Т. 53, № 3. С. 364–377.
53. Жигалина Д.И., Скрябин Н.А., Артюхова В.Г., Светлаков А.В., Лебедев И.Н. Молекулярное кариотипирование внеклеточной ДНК из внутритропостной жидкости blastocисты человека, клеток эмбриобласта и трофобласта // *Цитология*. 2016. Т. 58, № 6. С. 488–492.
54. Nazarenko M.S., Sleptcov A.A., Lebedev I.N., Skryabin N.A., Markov A.V., Golubenko M.V., Koroleva Iu.A., Kazancev A.N., Barbarash O.L., Puzyrev V.P. Genomic structural variations for cardiovascular and metabolic comorbidity // *Scientific Reports*. 2017. V. 7. P. 41268.
55. Nazarenko M.S., Markov A.V., Lebedev I.N., Freidin M.B., Sleptcov A.A., Koroleva I.A., Frolov A.V., Popov V.A., Barbarash O.L., Puzyrev V.P. A comparison of genome-wide DNA methylation patterns between different vascular tissues from patients with coronary heart disease // *PLoS ONE*. 2015. V. 10 (4). e0122601.
56. Скрябин Н.А., Лебедев И.Н., Толмачёва Е.Н., Вторушин С.В., Слонимская Е.М., Чердынцева Н.В. Эпигенетика процесса раннего лимфогенного метастазирования при раке молочной железы // *Вопросы онкологии*. 2011. Т. 57, № 6. С. 717–721.
57. Скрябин Н.А., Толмачёва Е.Н., Лебедев И.Н., Завьялова М.В., Слонимская Е.М., Чердынцева Н.В. Динамика аномалий метилирования функциональных групп генов при развитии рака молочной железы // *Молекулярная биология*. 2013. Т. 47, № 2. С. 302–310.
58. Denisov E.V., Skryabin N.A., Vasilyev S.A., Gerashchenko T.S., Lebedev I.N., Zavyalova M.V., Cherdyntseva N.V., Perelmuter V.M. Relationship between morphological and cytogenetic heterogeneity in invasive micropapillary carcinoma of the breast: a report of one case // *Journal of Clinical Pathology*. 2015. V. 68, № 9. P. 758–762.
59. Кашеварова А.А., Лебедев И.Н., Назаренко Л.П. Архитектура генома и хромосомные болезни. Синдромы реципрокных микроделетий и микродупликаций: атлас / под ред. В.П. Пузырёва. Томск: Печатная мануфактура, 2014. 56 с.
60. Беляева Е.О., Кашеварова А.А., Никонов А.М., Плотникова О.В., Скрябин Н.А., Назаренко Л.П., Лебедев И.Н. Значимость молекулярного кариотипирования для уточнения диагноза при цитогенетически визуализируемой хромосомной патологии // *Медицинская генетика*. 2016. Т. 17, № 7. С. 17–20.
61. Геномный импринтинг и болезни импринтинга // Пузырев В.П., Степанов В.А. Патологическая анатомия генома человека. Новосибирск: Наука, 1997. С. 100–109.
62. Болезни экспансии тринуклеотидных повторов и антиципация // Пузырев В.П., Степанов В.А. Патологическая анатомия генома человека. Новосибирск: Наука, 1997. С. 119–131.

63. Голубовский М.Д. Век генетики: эволюция идей и понятий. СПб.: Борей Арт, 2000. С. 262.
64. Назаренко С.А. Геномный импринтинг при наследственных болезнях человека // Тезисы докладов 1 (3) Съезда медицинских генетиков. М., 1994. С. 121–122.
65. Nazarenko S.A., Puzyrev V.P., Sukhanova N.N. Prenatal origin of Turner's syndrome in the Siberian populations in connection with analysis of chromosomal imprinting // International Symposium on genomic imprinting and new approaches in identification and mapping of genetic syndromes. November 20–22, 1994. Florence, 1994. P. 100.
66. Лебедев И.Н., Саженова Е.А. Эпимутации импринтированных генов в геноме человека: классификация, причины возникновения, связь с наследственной патологией // Генетика. 2008. Т. 44, № 10. С. 1356–1373.
67. Саженова Е.А., Лебедев И.Н. Эпимутации центра импринтинга KCNQ1OT1 хромосомы 11 при ранней эмбриональной гибели у человека // Генетика. 2008. Т. 44, № 12. С. 1608–1614.
68. Саженова Е.А., Лебедев И.Н. Эпимутации импринтированного гена *PLAGL1* при привычном невынашивании беременности // Медицинская генетика. 2010. Т. 9, № 11. С. 34–38.
69. Саженова Е.А. Молекулярная изменчивость кластера импринтированных генов хромосомы 15 у больных с синдромами Прадера–Вилли и Энгельмана: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Томск, 2003. 22 с.
70. Саженова Е.А., Лебедев И.Н., Назаренко С.А., Назаренко Л.П., Филимонова М.Н., Корягина О.Ю., Напалкова О.В., Масленников А.Б. Гено-фенотипические корреляции у пациентов с клинической картиной синдрома Прадера–Вилли // Медицинская генетика. 2006. Т. 5, № 1. С. 24–30.
71. Boyle J., Hawkins M., Barton D.E., Meaney K., Guitart M., O'Grady A., Tobi S., Ramsden S.C., Elles R., Gray E., Metcalfe P., Hawkins J.R. Establishment of the first WHO International genetic reference panel for Prader Willi and Angelman Syndromes // European Journal of Human Genetics. 2011. V. 19, № 8. P. 857–864.
72. Евдокимова В.Н., Назаренко С.А. Инактивация X-хромосомы у онтогенезе человека // Онтогенез. 1997. Т. 28, № 4. С. 175–178.
73. Толмачева Е.Н., Кашеварова А.А., Лебедев И.Н. Инактивация X-хромосомы и патология человека // Медицинская генетика. 2009. Т. 8, № 7. С. 9–15.
74. Евдокимова В.Н., Никитина Т.В., Лебедев И.Н., Суханова Н.Н., Назаренко С.А. К вопросу о соотношении полов при ранней эмбриональной летальности у человека // Онтогенез. 2000. Т. 31, № 4. С. 251–257.
75. Толмачева Е.Н., Кашеварова А.А., Суханова Н.Н., Харьков В.Н., Лебедев И.Н. Асимметричная инактивация X-хромосомы у эмбрионов человека с мозаичной трисомией хромосомы 16 // Генетика. 2011. Т. 47, № 3. С. 401–405.
76. Евдокимова В.Н., Путинцева Е.А., Назаренко С.А. Полиморфизм тринуклеотидных CAG-повторов первого экзона гена рецептора андрогенов в популяции г. Томска // Генетика. 2000. Т. 36, № 6. С. 859–862.
77. Толмачева Е.Н., Назаренко С.А. Полиморфизм тринуклеотидных повторов локусов FRAXA и FRAXE у жителей г. Томска // Генетика. 2002. Т. 38, № 2. С. 268–273.
78. Толмачева Е.Н. Молекулярно-генетическая характеристика двух локусов синдрома ломкой X-хромосомы у жителей Западно-Сибирского региона: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Томск, 2001. 21 с.
79. Лебедев И.Н. Эпигенетические модификации генома в эмбриональном периоде онтогенеза человека: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Новосибирск, 2008. 32 с.
80. Толмачева Е.Н., Кашеварова А.А., Суханова Н.Н., Саженова Е.А., Лебедев И.Н. Эпигенетическая инактивация гена *RB1* как фактор нестабильности генома: возможный вклад в этиологию хромосомного мозаицизма в эмбриональном периоде развития человека // Генетика. 2008. Т. 44, № 11. С. 1461–1467.
81. Кашеварова А.А., Толмачева Е.Н., Суханова Н.Н., Саженова Е.А., Лебедев И.Н. Оценка статуса метилирования промоторного региона гена контроля клеточного цикла *P14ARF* в плацентарных тканях спонтанных абортусов с хромосомным мозаицизмом // Генетика. 2009. Т. 45, № 6. С. 849–856.
82. Васильев С.А., Толмачева Е.Н., Кашеварова А.А., Саженова Е.А., Лебедев И.Н. Статус метилирования ретротранспозона LINE-1 при хромосомном мозаицизме на ранних стадиях эмбрионального развития человека // Молекулярная биология. 2015. Т. 49, № 1. С. 165–174.
83. Назаренко М.С., Лебедев И.Н., Марков А.В., Слепцов А.А., Кашеварова А.А., Толмачева Е.Н., Фролов А.В., Попов А.В., Барбараш О.Л., Барбараш Л.С. Феномен парадоминантного наследования при атеросклерозе // Медицинская генетика. 2014. Т. 13, № 10. С. 41–48.
84. Назаренко С.А. Комбинированное действие химических мутагенов на хромосомы человека: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1977. 24 с.
85. Бурмакина Ю.Э. Цитогенетическая оценка межиндивидуальной варибельности скорости пролиферации ФГА-стимулированных лимфоцитов человека: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1988. 23 с.
86. Назаренко С.А., Попова Н.А., Назаренко Л.П., Пузырёв В.П. Ядерно-химическое производство и генетическое здоровье. Томск: Печатная мануфактура, 2004. 272 с.
87. Тимошевский В.А., Лебедев И.Н., Васильев С.А., Суханова Н.Н., Яковлева Ю.С., Торхова Н.Б., Пузырёв В.П. Хромосомный и цитомный анализ соматических клеток работников радиохимического производства с инкорпорированным ²³⁹Pu // Радиационная биология и радиоэкология. 2010. Т. 50, № 6. С. 672–680.
88. Назаренко Л.П., Назаренко С.А., Кириллина В.И., Прокопьева Ю.Н. Генетико-экологическая оценка состояния здоровья жителей Якутии. Якутск: С.К.Имидж, 2001. 132 с.
89. Васильев С.А., Тимошевский В.А., Лебедев И.Н. Анеугенный эффект ионизирующего излучения в соматических клетках млекопитающих и человека // Генетика. 2009. Т. 45, № 12. С. 1589–1599.
90. Лебедев И.Н., Тимошевский В.А., Васильев С.А. Анеугенный эффект ионизирующих излучений: новый компонент в оценке генотоксических рисков // Вестник РАМН. 2011. № 9. С. 82–88.
91. Васильев С.А. Действие малых доз инкорпорированного плутония-239 на частоту анеуплоидии в соматических клетках человека: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Томск, 2010. 22 с.
92. Тимошевский В.А., Лебедев И.Н., Назаренко С.А. Биологическая индикация мутагенных воздействий: анализ числовых хромосомных нарушений в интерфазных клетках человека: учеб. пособие для интернов, ординаторов и слушателей курсов послепломной подготовки / под ред. В.П. Пузырёва. Томск: Печатная мануфактура, 2006. Вып. 7. 40 с. (Серия: Наследственность и здоровье).
93. Назаренко С.А., Тимошевский В.А. Способ оценки мутагенных воздействий: патент РФ на изобретение № 2223494, опубликован 10.02.2004 (приоритет от 15.07.2002).
94. Vasilyev S., Markova E., Belyaev I., Kubes M. DNA damage response in CD133+ stem / progenitor cells from umbilical cord blood: low level of endogenous foci and high recruitment of 53BP1 // International Journal of Radiation Biology. 2013. V. 89, № 4. P. 301–309.
95. Markova E., Somsedikova A., Vasilyev S., Belyaev I., Pobijakova M., Lackova A., Lukacko P. DNA repair foci and late apoptosis / necrosis in peripheral blood lymphocytes of breast cancer patients undergoing radiotherapy // International Journal of Radiation Biology. 2015. V. 91, № 12. P. 934–945.
96. Markova E., Vasilyev S., Belyaev I. 53BP1 foci as a marker of tumor cell radiosensitivity // Neoplasma. 2015. V. 62, № 5. P. 770–776.
97. Васильев С.А., Величевская А.И., Вишневецкая Т.В., Беленко А.А., Грибова О.В., Плаксин М.Б., Старцева Ж.А., Лебедев И.Н. Фоновое количество фокусов γH2AX в клетках человека как фактор индивидуальной радиочув-

- ствительности // Радиационная биология, радиозкология. 2015. Т. 55, № 4. С. 402–410.
98. Melnikov A.A., Vasilyev S.A., Musabaeva L.I., Velikaya V.V., Gribova O.V., Startseva Zh. A., Urazova L.N., Lebedev I.N., Choyznzonov E.L. Cytogenetic effects of neutron therapy in patients with parotid gland tumors and relapse of breast cancer // *Experimental Oncology*. 2012. V. 34, № 4. P. 354–357.
99. Васильев С.А., Лебедев И.Н., Мельников А.А. Способ определения индивидуальной радиочувствительности больных злокачественными новообразованиями при проведении лучевой терапии: патент РФ на изобретение № 2252507, опубликован 21.05.2014 (приоритет от 12.11.2012).
100. Беленко А.А. Цитогенетические и физиологические эффекты гамма-излучения и импульсно-периодического рентгеновского излучения в соматических клетках человека: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Томск, 2016. 23 с.
101. Чойнзон Е.Л., Кондакова Е.В., Спирина Л.В., Лебедев И.Н., Гольдберг В.Е., Чижевская С.Ю., Шишкин Д.А., Уразова Л.Н., Какурина Г.В., Бычков В.А., Хричкова Т.Ю., Мельников А.А. Плоскоклеточный рак головы и шеи: молекулярные основы патогенеза / отв. ред. Е.Л. Чойнзон, И.В. Кондакова. М.: Наука, 2016. 224 с.
102. Матвеев О.А. Характеристика хромосомных нарушений в эпителиальных клетках при хроническом гастрите и раке желудка: автореф. ... дис. канд. биол. наук. Томск, 2013. 23 с.
103. Скрябин Н.А. Роль хромосомных нарушений и аберрантного метилирования ДНК в развитии геномной нестабильности при раке молочной железы: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Томск, 2011. 23 с.
104. Denisov E.V., Skryabin N.A., Gerashchenko T.S., Tashireva L.A., Wilhelm J., Buldakov M.A., Sleptcov A.A., Lebedev I.N., Vtorushin S.A., Zavyalova M.V., Cherdyntseva N.V., Perelmutter V.M. Clinically relevant morphological structures in breast cancer represent transcriptionally distinct tumor cell populations with varied degrees of epithelial-mesenchymal transition and CD44⁺CD24⁻ stemness // *Oncotarget*. 2017. V. 8. P. 61163–61180.
105. Ferguson-Smith M., Pereira J., Kasai F. Chromosome sequencing: the fifth and final era of cytogenetics // *Mol. Cytogenet.* 2017. V. 10 (Suppl. 1): 20. P. 1.

ЛАБОРАТОРИИ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПАТОЛОГИИ – 28 ЛЕТ

Л.П. Назаренко

НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

Люди вместе могут совершить то,
чего не в силах сделать в одиночку.
Единение умов и рук, сосредоточение
их сил может стать почти всемогущим.

Д. Уэбстер

Лаборатория наследственной патологии была создана в декабре 1989 г. Организатором лаборатории и ее руководителем является доктор медицинских наук, профессор, заслуженный врач РФ Людмила Павловна Назаренко. В первые годы лаборатория работала совместно с лабораторией популяционной генетики (руководитель – академик РАН, профессор В.П. Пузырёв) над следующей задачей: разработать и внедрить в практику здравоохранения новую форму оказания специализированной помощи населению – медико-генетический диспансер (1987–1990 гг.). Эта работа определила объем необходимой специализированной помощи населению численностью один миллион человек, прогнозируемую нагрузку на медико-генетическую службу при диспансеризации семей с наследственной и врожденной патологией. Полученные результаты позволили обосновать принципы, определить задачи работы генетической клиники. Идея в последующем была реализована созданием в 1994 г. специализированного отделения наследственных болезней в составе первой в России генетической клиники, главным врачом которой стала Л.П. Назаренко.

С 1991 г. работа сотрудников лаборатории была сосредоточена на изучении частоты и спектра наследственных болезней в славянской популяции Томской области. Проведенное исследование позволило оценить объем и спектр генетического груза в исследуемой популяции. Выявлена высокая интенсивность миграционных потоков. Об этом свидетельствуют высокие значения индекса брачной миграции и низкие значения индекса локальной эндогамии. Получены невысокие, но статистиче-

ски значимые оценки брачной ассортативности по местам рождения и национальной принадлежности супругов. В сельской популяции установлена связь отягощенности аутосомно-рецессивной патологии с инбридингом. Так, группа с высокими значениями отягощенности населения заболеваниями с аутосомно-рецессивным типом наследования может быть описана линейной зависимостью. Миграция сельских жителей районов проходила на территории области неоднородно и колебалась в довольно больших пределах. Доля лиц, не являющихся уроженцами исследуемых районов, составила от 40%, а в северных районах области до 80–99%. Последнее – это районы интенсивного экономического освоения, край ссылки населения из других районов нашей страны. При этом подразделенность обследованных популяций области в большей степени определяется фактором этнической принадлежности супругов. В условиях интенсивного миграционного давления в славянской популяции такие факторы популяционной динамики, как генетическая подразделенность и брачная ассортативность, находятся на пороге минимума своих эффектов и не оказывают существенного влияния на величину груза наследственной патологии. Исследовательская работа завершена успешной защитой кандидатской диссертации Ольги Александровны Салюковой, работающей в настоящее время доцентом кафедры медицинской генетики ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (заведующий кафедрой академик РАН, профессор В.П. Пузырёв). Накопленный опыт она успешно передает студентам и врачам.

Начиная с 1996 г. объектом исследования лаборатории послужило население различных этносов, населяющих Сибирь. Получены новые знания о состоянии здоровья населения Республики Тыва. Определен уровень отягощенности населения наследственными менделирующими заболеваниями для тувинцев в различных районах республики. Особенностью коренного населения Тывы является высокая степень накопления мутантных генов отдельных синдромов, в частности микропии с атрезией слухового прохода и проводящей глухотой. Уточнен спектр наследственной патологии по районам республики. Разработан проспективный генетический регистр, который позволяет планировать профилактические мероприятия в семьях, имеющих детей с наследственной и врожденной патологией. Рада Шериг-ооловна Монгуш обобщила полученные результаты в кандидатской диссертации «Генетико-эпидемиологическое изучение наследственной патологии и опыт организации медико-генетической помощи населению Республики Тыва». В итоге эта работа позволила обосновать необходимость создания медико-генетической консультации в республике.

Инициативная тематика, выполняемая лабораторией, с 1993 г. выявила особенности груза мутантных наследственных болезней и врожденных пороков развития у населения Республики Саха (Якутия). В якутской популяции имеется высокая степень накопления мутантных генов отдельных заболеваний, прежде всего группы аутосомно-доминантных болезней с поздним проявлением, в основе которых лежит механизм экспансии числа тринуклеотидных повторов (спинномозжечковая атаксия I, окулофарингеальная мышечная дистрофия, миотоническая дистрофия), а также наследственной энзимопенической метгемоглобинемии. Результаты работы обобщены в диссертационных работах Анны Николаевны Ноговицыной, Елены Сергеевны Банщиковой и Айталины Лукичны Сухомясовой.

Результатом исследований, проведенных в 2000–2003 гг. совместно с лабораторией и Верой Николаевной Тадиновой, стало определение состояния здоровья населения Республики Алтай. Была проведена оценка уровня отягощенности аутосомно-доминантной, аутосомно-рецессивной, X-сцепленной патологией в национальных группах, населяющих республику (алтайцы, славяне, казахи). Сравнительный анализ разнообразия наследственных болезней показал, что их спектр имеет национальные и внутриэтнические особенности распространения. В республике был установлен факт накопления больных с синдромом микропии и атрезии наружного слухового прохода, а также выявлена этноспецифичность в распространении частот мутаций и генетического полиморфизма в гене *GJB2*. Для сельских популяций Республики Алтай характерны преобладание однонациональных браков, низкая миграционная активность, высокая случайная компонента инбридинга по изонимии.

С 2004 по 2012 г. объектом исследования являлось население Хакасии и Бурятии. Сравнительный анализ разнообразия наследственных болезней показал, что их спектр имеет национальные особенности распространения. Установлен факт накопления в обеих обследованных этнических группах – хака-

сов и бурят – определенного спектра наследственных болезней. Сравнительный анализ спектра и распространенности частых наследственных заболеваний, характерных для русских популяций Сибири, с данными нескольких этнических групп (хакасов, тувинцев, бурят) показал, что имеют место большое сходство по спектру наследственной патологии и существенные отличия по их распространенности.

Изучение динамики распространенности наследственных болезней в городских популяциях Томской области позволило получить дифференцированные оценки отягощенности городского населения Томской области наследственной патологией. Проведенное генетико-демографическое исследование отметило одновременное возрастание величин эндогамии и уменьшение индексов миграции, это косвенно может свидетельствовать о тенденции к повышению во времени параметров генетической подразделенности урбанизированных популяций. На фоне этого процесса наблюдается отчетливое снижение индексов ассортативности по национальностям и местам рождения супругов, что, напротив, свидетельствует об уменьшении генетической подразделенности по данным признакам. Над этой проблемой трудилась Юлия Юрьевна Коталевская, которая в 2006 г. успешно защитила диссертационную работу. В настоящее время она является сотрудником медико-генетической консультации Московской области.

Одним из наиболее адекватных способов контроля за наследственной изменчивостью в популяциях человека является определение частоты рождения детей с врожденными пороками развития (ВПР). Такой контроль может осуществляться достаточно эффективно при соблюдении ряда методологических условий сбора и анализа получаемой информации и, в частности, организации учета тех форм ВПР, которые имеют четко очерченный фенотип и хорошо диагностируются. Определение базовых частот ВПР в конкретных регионах страны и создание регистров ВПР с целью мониторинга за наследственной изменчивостью популяций, проживающих на территории Сибири, стали второй задачей, которую решали сотрудники лаборатории.

В результате проведенных исследований были определены базовые частоты ВПР у детей Томска, Кызыла и Горно-Алтайска на основе использования трех различных систем их регистрации: а) 9 «легко» диагностируемых форм у детей первых семи дней жизни; б) 19 форм, учитываемых в Европейском регистре EUROCAT; в) всех форм ВПР, регистрируемых у детей в возрасте до одного года жизни. Кроме того, были выявлены общие закономерности и территориальные различия в частоте ВПР. Полученные важные научно-практические результаты были обобщены Ларисой Ивановной Минайчевой в докторской диссертации «Генетико-эпидемиологическое исследование врожденных пороков развития в сибирских популяциях: мониторинг, медико-генетическое консультирование, диспансеризация».

С 2013 г. сотрудники лаборатории занимаются изучением молекулярной эпидемиологии наследственных болезней обмена у населения Сибири. Важнейшем разделом в клинической генетике является обнаружение наследственных заболеваний

обмена на доклинической стадии. Учитывая сложность дифференциальной диагностики лизосомных болезней, возникает необходимость разработки дополнительного инструмента для ранней диагностики и выявления случаев тяжелого прогрессирующего мультисистемного заболевания – болезни Фабри. Предложенный алгоритм позволяет выявить определенную группу детей, нуждающихся в повышенном внимании в связи с проявлением минимальных симптомов болезни Фабри.

Кроме того, в лаборатории систематически проводится анализ спектра мутаций гена *CFTR* у больных муковисцидозом сибирского региона. Выполняет этот раздел работы старший научный сотрудник лаборатории, к.б.н. О.Н. Одиноква. В результате обнаружены крупные внутригенные делеции / дупликации, охарактеризованы мутации у представителей коренных народностей Сибири (буряты, хакасы, тувинцы, алтайцы), найдено несколько новых мутаций, характерных для перечисленных этносов.

Сотрудники лаборатории участвуют в учебном процессе на кафедре медицинской генетики с курсом ФПК и ППС ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России: чтение лекций по клинической генетики для студентов педиатрического, лечебного и медико-биологического факультетов, для слушателей ФПК и ППС. Совместно с лабораториями института лаборатория наследственной патологии активно проводит подготовку кадров: клинических ординаторов, аспирантов. Первыми подготовленными ординаторами, которые в настоящее время успешно работают в области медицинской генетики, являются О.А. Салюкова (Острецова), Л.И. Любомирова, М.Н. Филимонова, Л.И. Лаврова, Л.А. Крылова, Т.Н. Немцева и др. Подготовлен курс обучающихся лекций для врачей различных специальностей: пе-

диатров, акушеров-гинекологов, терапевтов, неврологов, дерматологов. Лаборатория наследственной патологии осуществляет тесное консультативно-диагностическое сотрудничество с медико-генетическими службами Уральского, Западно-Сибирского и Дальневосточного федеральных округов. Сотрудники лаборатории принимают активное участие в работе отечественных и международных конференций: опубликовано более 400 печатных трудов, в том числе 6 монографий, 6 учебно-методических работ и 1 пособие для врачей.

Основные направления научной деятельности лаборатории наследственной патологии:

- изучение отягощенности и закономерностей формирования груза наследственной патологии в сибирских популяциях;
- организация регионального медико-генетического консультирования;
- характеристика спектра мутаций и изучение полиморфизма локусов генома человека, связанных с моногенной патологией в сибирском регионе.

Диагностические возможности лаборатории наследственной патологии и помощь практическому здравоохранению:

- консультативный прием сложных случаев патологии;
- молекулярно-генетическая диагностика широкого спектра моногенных заболеваний, включая пренатальную.

Контактная информация:

Руководитель лаборатории наследственной патологии НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ д.м.н., профессор, заслуженный врач РФ
Назаренко Людмила Павловна
 Тел.: +7(3822) 53-56-83
 E-mail: ludmila.nazarenko@medgenetics.ru

ЛАБОРАТОРИЯ ЭВОЛЮЦИОННОЙ ГЕНЕТИКИ НИИ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ. ИСТОРИЯ, ДОСТИЖЕНИЯ, ПЕРСПЕКТИВЫ

В.А. Степанов

НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

Предыстория

Исследования в области популяционной генетики и генетико-демографической структуры коренного населения Сибири были одним из главных направлений исследований с момента создания томского Отдела медицинской генетики Института медицинской генетики АМН СССР в 1982 г., а затем с 1987 г., – Научно-исследовательского института медицинской генетики. В области генетической демографии населения Сибири, описания структуры генофонда с помощью «классических» белковых маркеров в 1980-х – начале 1990-х гг. в институте работали В.П. Пузырёв, Т.А. Абанина, А.Н. Кучер, С.В. Лемза [1–4].

Одной из первых российских работ по популяционной генетике человека с использованием молекулярно-генетических маркеров стало исследование полиморфизма митохондриальной ДНК у населения г. Томска, опубликованное в 1991 г. в «Бюллетене СО

АМН СССР» [5] и в 1992 г. в журнале «Генетика» [6]. В этот период экспериментальные исследования в институте были переведены на базу современных (на тот момент) молекулярно-генетических технологий, основанных на гибридизации нуклеиновых кислот, полимеразной цепной реакции и секвенировании ДНК. К середине 1990-х гг. в НИИ медицинской генетики была создана материально-техническая база, позволившая внедрить одними из первых в стране наиболее передовые технологии того времени, включая молекулярную цитогенетику, автоматизированное секвенирование и анализ фрагментов ДНК, многолокусную ПЦР и др. Начала формироваться и пополняться в экспедиционных работах выборками коренного населения Сибири и коллекция образцов ДНК.

Развитие направлений исследований и приборной базы института вполне соответствовало трендам мировой науки. В популяционной и эволюционной генетике человека в то время происходили процес-

сы активного внедрения и ассимиляции ДНК-технологий, которые один из ведущих мировых популяционных генетиков Луиджи Лука Кавалли-Сфорца назвал ДНК-революцией в популяционной генетике [7]. Первые плоды этой революции – реконструкция расселения человека по территории земного шара с помощью нерекомбинантных участков генома, обоснование концепций «митохондриальной Евы» и «Y-хромосомного Адама», разработка подходов генетической датировки униродительских линий и геногеографии, анализ ДНК неандертальцев – давали надежды на быстрый прогресс в понимании эволюции и генетической истории современного человека. Росло и понимание того, что глубокий анализ «нормальной» вариативности генома человека является необходимой предпосылкой в исследовании генетических основ заболеваний человека.

После защиты кандидатской диссертации В.А. Степановым в 1995 г. руководимая им небольшая группа в составе лаборатории молекулярной генетики с 1996 г. начала молекулярно-генетическое исследование генетического разнообразия населения Сибири. Появились и первые публикации [8–10]. Необходимость развития этого направления в институте медицинской генетики обсуждалась и в научных дискуссиях, и в неформальных беседах с Валерием Павловичем Пузырёвым, была поддержана им. В сентябре 1998 г. ученым советом института была утверждена тема докторской диссертации

В.А. Степанова «Этногеномика населения Северной Евразии».

Таким образом, к концу 1999 г. сложились все предпосылки для открытия новой лаборатории в структуре НИИ медицинской генетики ТНЦ СО РАН: нерешенность научной проблемы структуры и эволюции генофонда популяций населения Сибири и сопредельных территорий; научный интерес к проблеме группы исследователей во главе с перспективным лидером; соответствие передовым направлениям мировой науки и интересам развития института; наличие материально-технической базы для проведения исследований.

Создание и работа лаборатории в период 2000–2005 гг.

Создание лаборатории

Решение о создании в структуре Института медицинской генетики ТНЦ СО РАН лаборатории эволюционной генетики было принято на заседании ученого совета НИИМГ 24 декабря 1999 г. Приказом директора от 27 декабря 1999 г. руководителем лаборатории был назначен к.б.н. В.А. Степанов. Первыми сотрудниками лаборатории стали к.б.н. М.Г. Спиридонова (Сваровская), к.б.н. А.В. Марусин, аспиранты И.Ю. Хитринская (2000–2003 гг., научный сотрудник с 2003 г.), В.Н. Харьков (2002–2005 гг., научный сотрудник с 2005 г.) (табл. 1).

Таблица 1

Сотрудники лаборатории эволюционной генетики

Ф.И.О.	Должность; ученая степень	Период работы	Индекс Хирша РИНЦ	Индекс Хирша WoS
Степанов Вадим Анатольевич	Рук. лаборатории; д.б.н.	2000 – н.в.	24	12
Сваровская (Спиридонова) Мария Геннадьевна	Н.с.; к.б.н.	2000 – н.в.	12	7
Марусин Андрей Викторович	Н.с.; к.б.н.	2000 – н.в.	7	4
Хитринская Ирина Юрьевна	Аспирант, н.с.; к.б.н.	2000–2014	6	6
Харьков Владимир Николаевич	Аспирант, н.с., с.н.с., в.н.с.; д.б.н.	2002 – н.в.	12	7
Варзарь Александр Михайлович	М.н.с., PhD	2004–2006	–	–
Пельс Янис Рудольфович	Аспирант, лаборант-исследователь	2005–2008	2	–
Трифорова Екатерина Александровна	Аспирант, лаборант-исследователь, м.н.с., н.с.; к.м.н.	2006 – н.в.	6	2
Звекова Ольга Макаровна	Лаборант-исследователь	2010–2016	–	–
Вагайцева (Симонова) Ксения Валерьевна	М.н.с., н.с.; к.б.н.	2010 – н.в.	4	4
Бочарова Анна Владимировна	М.н.с.	2011 – н.в.	4	–
Попович (Чередниченко) Анастасия Андреевна	Аспирант, м.н.с.	2012 – н.в.	2	–
Сереброва Виктория Николаевна	Аспирант, м.н.с.	2013 – н.в.	3	–
Колесников Никита Александрович	Аспирант	2017 – н.в.	–	–
Зарубин Алексей Андреевич	Лаборант-исследователь	2017 – н.в.	–	–

Направления и результаты исследований лаборатории в 2000–2005 гг.

В 2001 г. на срок 2001–2005 гг. была утверждена тема научно-исследовательской работы лаборатории «Молекулярная этногенетика населения Сибири и Средней Азии» (табл. 2). Задачей работы было выявление генетических взаимоотношений этносов

Сибири и Средней Азии на основе комплексного молекулярно-генетического анализа их генофондов. В ходе выполнения работ по теме были разработаны подходы к анализу филогении и филогеографии гаплотипов нерекомбинантных участков Y-хромосомы [11–17], генетического разнообразия популяций человека с помощью различных маркерных систем, включая панели полиморфных инсер-

ций мобильного элемента *Alu* [18–21] и аутомсомных микросателлитных маркеров [22–25], внедрены новые методы молекулярно-генетического анализа варибельности ДНК – фрагментный анализ и автоматическое секвенирование ДНК с помощью капиллярного гель-электрофореза, многолокусная ПЦР с флуоресцентно-мечеными праймерами, биоинформационные методы анализа филогенетики и оценки возраста нерекомбинантных линий в геноме человека и др. Для выполнения работ по теме был существенно пополнен биобанк НИИ

медицинской генетики. Был проведен ряд экспедиций (в том числе поддержанных грантами РФФИ – табл. 2) для сбора биологического материала у представителей коренного населения Сибири, на Север Томской области, в Красноярский край, Ханты-Мансийский автономный округ, Республику Алтай. В совместных работах с Якутским научным центром СО РАМН, с соискателями из Тывы, Алтая, Киргизии были собраны выборки из популяций народов Северной Азии, Южной Сибири и Средней Азии.

Таблица 2

Темы НИР, гранты научных фондов и госконтракты, выполненные в лаборатории эволюционной генетики

Тип темы, источник финансирования	Наименование темы	Руководитель	Годы выполнения	Объем финансирования (тыс. руб.)
Основная тема НИР, РАМН	Молекулярная этногенетика населения Сибири и Средней Азии	В.А. Степанов	2001–2005	4 720,2
Подпрограмма «Геном человека» ФЦНТП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники гражданского назначения»	Полиморфизм генов-кандидатов сердечно-сосудистых болезней у больных коронарным атеросклерозом, артериальной гипертензией, гипертрофией левого желудочка и гипертрофической кардиомиопатией	В.А. Степанов	1998–2001	83,6
Грант РФФИ № 00-04-48506-а	Происхождение и эволюция линий Y-хромосомы у народов алтайской языковой семьи	В.А. Степанов	2000–2002	260
Грант РФФИ № 01-04-06372-мас	Программа поддержки молодых ученых (для проекта 00-04 48506)	И.Ю. Хитринская	2001	30
Грант РФФИ № 01-04-06373-мас	Программа поддержки молодых ученых (для проекта 00-04 48506)	В.Н. Харьков	2001	30
Грант РФФИ № 01-04-63076-к	Организация и проведение экспедиции на Север Томской области	В.А. Степанов	2001	30
Грант РФФИ № 01-04-58550-з	Участие в конференции «Геном человека-2001» (Human Genome Meeting)	В.А. Степанов	2001	15
The Wenner-Gren Foundation for Anthropological Research, grant # 6801	The origin and evolution of Y-chromosome lineages in populations of Altaic language family	V.A. Stepanov	2001–2002	560,7 (18,690 \$)
Грант РФФИ № 02-04-49166-а	Характеристика генофонда популяций Северной Евразии с помощью полиморфных <i>Alu</i> -инсерций	М.Г. Спиридонова	2002–2004	420
Грант РФФИ № 02-04-06041-мас	Программа поддержки молодых ученых (для проекта 00-04 48506)	И.Ю. Хитринская	2002	30
Грант РФФИ № 02-04-06042-мас	Программа поддержки молодых ученых (для проекта 00-04 48506)	В.Н. Харьков	2002	30
Грант РФФИ № 02-04-63042-к	Организация и проведение экспедиции в районы проживания южных селькупов	В.А. Степанов	2002	30
Грант РФФИ 02-04-58559-з	Участие в конференции «Геном человека-2002» (Human Genome Meeting, HGM2002)	В.А. Степанов	2002	20
Грант проекта «Базы данных о генофондах человека, животных, растений и микроорганизмов» ФЦНТП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям науки и техники 2002–2004 гг.»	Создание базы медико-генетических данных о генофондах населения Сибири	В.П. Пузырёв	2002–2004	185
Грант РФФИ № 03-04-49021-а	Филогеография линий Y-хромосомы в Сибири и Средней Азии	В.А. Степанов	2003–2005	580
Грант Президента РФ для молодых докторов наук МД-88.2003.04	Этногеномика населения Сибири и Средней Азии и наследственные основы широко распространенных болезней	В.А. Степанов	2003–2005	550

Продолжение табл. 2

Тип темы, источник финансирования	Наименование темы	Руководитель	Годы выполнения	Объем финансирования (тыс. руб.)
Грант VII конкурса научных разработок Томской области	Геномная диагностика наследственной предрасположенности к широко распространенным заболеваниям (сердечно-сосудистые болезни, сахарный диабет, бронхиальная астма, генетически детерминированные венозные тромбозы, осложненное течение беременности)	В.А. Степанов	2003–2004	160
Грант РФФИ № 03-04-06011-мас	Программа поддержки молодых ученых (для проекта 02-04 49166)	И.Ю. Хитринская	2003	30
ФЦНТП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники» на 2002–2006 гг., ГК № 02.442.11.7010	Генетическое разнообразие населения Северной Евразии по линиям Y-хромосомы и генам подверженности к сердечно-сосудистым болезням	В.А. Степанов	2005	550
ФЦНТП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники» на 2002–2006 гг., ГК № 02.442.11.7074	Генофонд населения Восточной Европы по гаплогруппам Y-хромосомы	В.Н. Харьков	2005	360
Грант РФФИ № 05-04-63048-к	Организация и проведение экспедиции в Ханты-Мансийский автономный округ для обследования популяций хантов и манси в рамках этногенетических проектов	В.А. Степанов	2005	110
Грант РФФИ № 03-04-06012-мас	Программа поддержки молодых ученых (для проекта 02-04 49166)	В.Н. Харьков	2003	30
Грант РФФИ-Объ № 05-04-98007-р_объ_a	Изучение молекулярно-генетических основ подверженности и разработка тест-системы диагностики алкоголизма в Сибирском регионе	А.В. Марусин	2005–2007	600
Основная тема НИР, РАМН	Структура неравновесия по сцеплению, эволюция гаплотипов и генетическое разнообразие участков генома человека различной локализации в популяциях Евразии	В.А. Степанов	2006–2012	28 780
ФЦНТП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники» на 2002–2006 гг., ГК № 02.442.11.7317	Эволюция и генетическое разнообразие линий Y-хромосомы человека у населения Северной Евразии	В.А. Степанов	2006	600
ФЦНТП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники» на 2002–2006 гг., ГК № 02.442.11.7349	Генофонд коренного населения Южной Сибири по гаплогруппам Y-хромосомы	В.Н. Харьков	2006	400
ФЦНТП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники» на 2002–2006 гг., ГК № 02.442.11.7536	Распределение и эволюция гаплотипов гена переносчика дофамина в Северной Евразии, ассоциации с риском формирования алкогольной зависимости в русской популяции	А.В. Марусин	2006	600
ФЦНП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники» на 2002–2006 гг., ГК № 02.444.11.7247	Структура разнообразия Y-хромосомы в различных популяциях человека	В.А. Степанов	2006	460
Грант РФФИ № 06-04-48274-а	Эволюция и филогеография линий Y-хромосомы человека у населения Северной Евразии	В.А. Степанов	2006–2008	1 200
Государственный контракт № 164 с администрацией Томской области	Формирование и развитие рынка услуг по геномной диагностике предрасположенности к широко распространенным заболеваниям	В.А. Степанов	2006	500

Продолжение табл. 2

Тип темы, источник финансирования	Наименование темы	Руководитель	Годы выполнения	Объем финансирования (тыс. руб.)
Грант РФФИ № 06-04-58557-з	Участие в европейской конференции по генетике человека	В.А. Степанов	2006	25
Договор с ООО «Бионем»	Анализ генетического полиморфизма микросателлитных локусов генома человека в популяциях Сибири	В.А. Степанов	2007	102
Грант РФФИ № 07-04-01629-а	Архитектура неравновесия по сцеплению, эволюция гаплотипов и генетическое разнообразие участков генома человека различной локализации в популяциях Евразии	М.Г. Спиридонова	2007–2009	1 100
Грант РФФИ № 07-04-01749-а	Характеристика популяций и населения мегаполисов Российской Федерации по аллелям локусов, используемых для ДНК-идентификации в судебно-медицинской экспертизе	Н.К. Янковский	2007–2009	100
Грант РФФИ № 07-04-08174-з	Участие в Европейской конференции по генетике человека	В.А. Степанов	2007	25
Грант РФФИ № 07-04-10173-к	Организация и проведение экспедиции в Хакасию для обследования популяции хакасов в рамках этногенетических проектов	В.А. Степанов	2007	120
Грант РФФИ № 07-04-10177-к	Организация и проведение экспедиции в Приморский край в рамках этногенетических проектов	М.Г. Спиридонова	2007	120
Гос. контракт № 5027р/7339 Старт-2007 Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере	Поиск геномных маркеров предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям и разработка экспериментального ДНК-чипа	В.А. Степанов	2007–2009	750
Грант Президента РФ МК-3362.2008	Структура генофонда коренных этносов Южной Сибири по гаплогруппам Y-хромосомы	В.Н. Харьков	2008–2009	300
Грант РФФИ № 08-04-08114-з	Участие в Европейской конференции по генетике человека (EHGC-2008)	В.А. Степанов	2008	35
Грант РФФИ 08-04-10100-к	Организация и проведение экспедиции в Хакасию в рамках этногенетических проектов	В.А. Степанов	2008	150
Грант РФФИ № 09-04-00143-а	Генетическая история населения Северной Евразии по данным гаплотипов X и Y-хромосомы	В.А. Степанов	2009–2011	1050
Грант РФФИ № 09-04-99083-р_офи	Генетические факторы в этиологии и патогенезе алкоголизма у населения Западной Сибири	А.В. Марусин	2009–2010	900
Грант РФФИ № 09-04-99028-р_офи	Оценка эффективности предиктивных генетических тестов и разработка экспертной системы прогнозирования развития осложненного течения беременности в популяциях различного этнического происхождения	В.А. Степанов	2009–2010	1 500
Грант РФФИ № 09-04-92665-ИНД_а	Происхождение и расселение индоевропейцев: филогеография Y-хромосомной гаплогруппы R1a1	В.А. Степанов	2009–2010	690
Seventh Framework Programme of the European Union FP7-HEALTH-2009. Grant # 242257	ADAMS – Genomic variations underlying common behavior diseases and cognition trait in human populations	V.A. Stepanov	2009–2012	7 010
Гос. контракт ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники» на 2007–2012 гг. № 02.512.11.2289.	Работы по проведению проблемно-ориентированных поисковых исследований и созданию научно-технического задела в области живых систем с участием научных организаций Индии	В.А. Степанов	2009–2010	3 000

Продолжение табл. 2

Тип темы, источник финансирования	Наименование темы	Руководитель	Годы выполнения	Объем финансирования (тыс. руб.)
Грант РФФИ № 09-04-10062-к	Организация и проведение экспедиции на Дальний Восток в рамках этногенетических проектов	М.Г. Спиридонова	2009	200
Грант РФФИ № 09-04-10065-к	Организация и проведение экспедиции в Удмуртию в рамках этногенетических проектов	В.А. Степанов	2009	150
Грант РФФИ № 09-04-90744-моб_ст	Научная работа российского молодого ученого Куртанова Харитона Алексеевича в ГУ НИИ медицинской генетики ТНЦ СО РАМН по теме планируемой диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук «Молекулярно-генетический механизм накопления окулофарингеальной миодистрофии (ОФМД) в Якутии»	В.А. Степанов	2009	300
ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг. Госконтракт № П321	Изучение генетического разнообразия в современных популяциях человека	В.А. Степанов	2010–2012	3 800
Грант РФФИ № 10-04-10148-к	Организация и проведение экспедиции в Республику Коми в рамках этногенетических проектов	В.А. Степанов	2010	120
ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2013 гг.», Госконтракт № 16.512.11.2033	Разработка систем генетических маркеров Y-хромосомы и митохондриальной ДНК для идентификации личности в криминалистике и судебной медицины	В.А. Степанов	2011–2012	5 000
Грант РФФИ № 11-04-10097-к	Организация и проведение экспедиции в Калмыкию в рамках этногенетических проектов	В.А. Степанов	2011	200
Грант РФФИ № 11-04-98069-р_сибирь_a	Структура неравновесия по сцеплению и эволюция гаплотипов генов серотонинергической системы в популяциях Западно-Сибирского региона: взаимосвязь с психодиагностическими признаками в русской популяции Томской области	А.В. Марусин	2011–2012	600
ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг. Соглашение № 8042	Этническая геномика населения Сибири (НОЦ)	В.А. Степанов	2012–2013	3 657
ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2013 гг.», ГК № 11.519.11.2036	Работы по проведению проблемно-ориентированных поисковых исследований и созданию научно-технического задела в области наук о жизни с участием научно-исследовательских организаций Австралии	В.А. Степанов	2012–2013	5 500
ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг. Соглашение № 8118	Интегрированный анализ полногеномных и транскриптомных данных для идентификации эволюционных аспектов формирования репродуктивных заболеваний человека	Е.А. Трифонова	2012–2013	1 200
Грант РФФИ № 12-04-00595-а	Этническая геномика нейropsychиатрических заболеваний в популяциях России	В.А. Степанов	2012–2014	1 550
Грант РФФИ № 12-04-10082-к	Организация и проведение экспедиции в Карелию в рамках этногенетических проектов	В.А. Степанов	2012	150

Окончание табл. 2

Тип темы, источник финансирования	Наименование темы	Руководитель	Годы выполнения	Объем финансирования (тыс. руб.)
Основная тема / Тема госзадания, РАНХ / ФАНО	Адаптивная эволюция генетического разнообразия в популяциях Северной Евразии	В.А. Степанов	2013–2019	26 415
Договор с ТГУ № 2407	Анализ однонуклеотидных маркеров генома человека в генах, ассоциированных с когнитивными признаками	В.А. Степанов	2013	510
Грант РФФИ № 13-04-02023-а	Структура и филогеография гаплогрупп N1b и N1c Y-хромосомы	В.Н. Харьков	2013–2014	880
Грант РФФИ № 13-04-10083-к	Научный проект проведения экспедиции в Республику Карелия	В.А. Степанов	2013	200
Грант РФФИ № 13-04-10185-к	Организация и проведение экспедиции в Иркутскую область в рамках этногенетических проектов	В.Н. Харьков	2013	200
ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 гг.». Соглашение № 14.604.21.0019	Разработка системы генетических маркеров X-хромосомы для ДНК-идентификации в криминалистике и судебной медицине	В.А. Степанов	2014–2015	10 000
Грант РФФИ № 14-04-01467-а	Выявление этно-популяционных характеристик подверженности к преэклампсии в популяциях России с использованием подходов геномики и транскриптомики	Е.А. Трифонова	2014–2016	1 500
Грант РФФИ № 15-04-02442-а	Поиск генетических маркеров адаптации к климату у населения Северной Евразии	В.А. Степанов	2015–2017	1 880
Грант РФФИ № 16-15-00020	Генетические основы вариативности когнитивных функций у людей пожилого возраста и у пациентов с болезнью Альцгеймера	В.А. Степанов	2016 - 2018	18 000
Грант Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – докторов наук № МД-8886.2016.4	Адаптивная эволюция генетического разнообразия и естественный отбор в популяциях человека	В.Н. Харьков	2016–2017	2 000
Грант РФФИ № 16-34-60222 мол_а_дк	Исследование адаптивной эволюции генофонда популяций человека и естественного отбора в условиях высокогорья	В.Н. Харьков	2016–2018	6 000
Грант РФФИ № 16-31-01104/16	Анализ родоплеменной структуры коренных этносов Южной Сибири на основе изучения популяционного генофонда по ДНК-маркерам Y-хромосомы	В.Н. Харьков	2016–2019	1 500
Научно-техническая программа Союзного государства «Разработка инновационных геногеографических и геномных технологий идентификации личности и индивидуальных особенностей человека на основе изучения генофондов регионов Союзного государства», мероприятие № 4 «Разработка технологии ДНК-идентификации и определения популяционной принадлежности неизвестного индивида»	Выявление генетических маркеров, наиболее информативных для дифференциации генофондов основных этно-региональных групп населения Союзного государства и ДНК-идентификации индивида в рамках	В.А. Степанов	2017	10 988

Наряду с популяционно-генетическими исследованиями в лаборатории продолжалась и начатая ранее тематика по поиску генетических маркеров многофакторных болезней сердечно-сосудистой системы – коронарного атеросклероза, ишемической болезни сердца, кардиомиопатий. Эти работы поддерживались грантами Российской программы «Геном человека», грантом Президента РФ для молодых докторов наук и ФЦНТП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники» на 2002–2006 гг. [26–40].

В результате выполнения исследований по теме 2001–2005 гг. выявлен высокий уровень наследственного разнообразия и степени генетической дифференциации населения Северной Евразии на различных уровнях иерархической организации генетической структуры народонаселения. Проведена целостная реконструкция процессов эволюции генофондов у населения исследуемого региона, что позволило выявить генетические взаимоотношения между современными этническими группами, проживающими на территории Сибири и Средней Азии, реконструировать процесс заселения современным человеком этой территории, выявить пути, источники и ориентировочные датировки миграционных событий. С помощью филогеографического анализа распределения линий Y-хромосомы выявлены основные этапы и пути расселения современного человека по территории Старого Света.

Показана корреляция генетического разнообразия по шести различным системам маркеров (классические маркеры, две системы аутосомного молекулярно-генетического полиморфизма, две системы маркеров отцовских линий Y-хромосомы, материнские линии мтДНК). Выявлена роль антропологических, лингвистических и географических факторов в формировании структуры генетической дифференциации популяций и показано, что эффект географической дифференциации на генетическую структуру популяций является гораздо более выраженным, чем роль лингвистических различий, что подчеркивает пространственный характер организации генетической вариабельности популяций человека [41–47].

Достижения, гранты, премии

Выполнение основной темы НИР лаборатории эволюционной генетики в 2001–2005 гг. было бы невозможным без активной грантовой поддержки исследований коллектива (см. табл. 2). В этот период в лаборатории выполнялись работы по 13 исследовательским грантам – 3 грантам ФЦНТП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям науки и техники 2002–2004 гг.», 8 грантам РФФИ, гранту Президента РФ для молодых докторов наук, гранту международного фонда Веннера–Грена. Кроме того, 3 грантами РФФИ были поддержаны экспедиции лаборатории, 2 грантами – проведение конференций. В период 2001–2005 гг. сотрудниками лаборатории было опубликовано более 100 работ, включая 2 монографии и 32 статьи в рецензируемых журналах (в том числе, 27 в журналах, входящих в Web of Science). По результатам работы было сделано более 30 устных докладов на крупнейших российских и международных форумах, включая международную конференцию по геному человека (Human Genome Meeting), международную конференцию по биоразнообразию Северной Евразии (BDNE), итоговые конференции российской программы «Геном человека», съезд Российского общества медицинских генетиков и др. Участие сотрудников лаборатории во многих конференциях было поддержано специальными грантами РФФИ, стипендиями Европейского общества генетики человека (ESHG) и Международного общества по изучению генома человека (HUGO).

Лаборатория активно включилась в международное научное сотрудничество. Совместные исследования, реализовавшиеся, в том числе, в серию публикаций в высокорейтинговых журналах, проводились с Эстонским биоцентром (г. Тарту), Университетом имени Максимилиана-Людвига (г. Мюнхен, Германия) [48–53].

Сотрудники лаборатории стали лауреатами различных премий и наград, среди которых можно отметить премию и медаль Президиума РАМН 2002 г. в области фундаментальных медицинских исследований (В.А. Степанов, 2003). По результатам выполнения темы НИР лаборатории эволюционной генетики 2001–2005 гг. были защищены одна докторская (В.А. Степанов) и две кандидатские (И.Ю. Хитринская, В.Н. Харьков) диссертации (табл. 3).

Таблица 3

Диссертации, защищенные сотрудниками, аспирантами и соискателями лаборатории эволюционной генетики

Диссертант	Название	Степень	Руководитель (научный консультант)	Год защиты
В.А. Степанов	Этногеномика населения Сибири и Средней Азии	Д.б.н.	Акад. РАМН В.П. Пузырёв, д.б.н. В.Н. Стегний	2001
И.Ю. Хитринская	Генетическое разнообразие коренного населения Сибири и Средней Азии по полиморфным Alu-инсерциям	К.б.н.	Д.б.н. В.А. Степанов	2003
В.Н. Харьков	Структура линий Y-хромосомы в популяциях Сибири	К.б.н.	Д.б.н. В.А. Степанов	2005
А.М. Варзарь	Population History of the Dniester-Carpathians: Evidence from Alu Insertion and Y-Chromosome Polymorphisms	PhD	Dr. W. Stephan, Dr. V.A. Stepanov	2006
Е.А. Трифонова	Структура неравновесия по сцеплению гена <i>MTHFR</i> в популяциях Северной Евразии и у больных коронарным атеросклерозом	К.м.н.	Д.б.н. В.А. Степанов, акад. РАМН В.П. Пузырёв	2007

О к о н ч а н и е т а б л . 3

Диссертант	Название	Степень	Руководитель (научный консультант)	Год защиты
Н.Р. Максимова	Клинико-генеалогическая и молекулярно-генетическая характеристика этноспецифических форм наследственной патологии у якутов	Д.м.н.	Акад. РАН В.П. Пузырёв, д.б.н. В.А. Степанов	2009
Х. Гамаль Абдель Азиз Наср	Структурно-функциональная характеристика генов-модификаторов иммунного ответа при заболеваниях печени различной этиологии	К.б.н.	Д.б.н. В.А. Степанов	2011
К.К. Павлова	Генетический анализ предрасположенности к гестозу в якутской популяции	К.м.н.	Д.б.н. В.А. Степанов, д.м.н. Р.Д. Филиппова	2011
В.Н. Харьков	Структура и филогеография генофонда коренного населения Сибири по маркерам Y-хромосомы	Д.б.н.	Д.б.н. В.А. Степанов	2012
А.Ю. Ворожищева	Генетические факторы развития преэклампсии в популяциях различного этнического происхождения	К.м.н.	Д.б.н. В.А. Степанов	2014
С.К. Степанова	Генетическая вариабельность локуса миотонинпротеинкиназы в якутской популяции	К.б.н.	Д.б.н. В.А. Степанов	2015
Х.А. Куртанов	Окулофарингеальная миодистрофия и генетическая вариабельность локуса ОФМД в популяциях Якутии	К.м.н.	Д.б.н. В.А. Степанов	2015
К.В. Вагайцева	Генетическое разнообразие популяций Северной Евразии по STR и SNP маркерам X-хромосомы и их ДНК-идентификационный потенциал	К.б.н.	Д.б.н. В.А. Степанов	2015
А.А. Попович	Эволюция генетического разнообразия популяций человека по генам, ассоциированным с иммунозависимыми фенотипами	К.б.н.	Член-корр. РАН В.А. Степанов	2017

Подготовка кадров

В лаборатории с момента ее создания огромное внимание уделялось подготовке кадров и подбору молодых талантливых исследователей. На ее базе выполняли дипломные и магистерские работы студенты ТГУ и СибГМУ, наиболее заинтересованные и талантливые из которых впоследствии пополняли коллектив в качестве аспирантов и научных сотрудников. Яркими примерами работы по подготовке кадров явились успехи первых аспирантов лаборатории И.Ю. Хитринской (ныне – к.б.н., ученый секретарь НИИМГ ТНИЦ и ТНИМЦ СО РАН) и В.Н. Харьковова (ныне – д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории). Ирина и Владимир пришли в институт еще студентами младших курсов, активно и творчески включились в научную работу и быстро добились признания своих талантов. Ирина стала обладателем престижных студенческих наград – медали Российской академии медицинских наук за лучшую научную работу студентов вузов РФ по разделу «Медицинские науки» (1998 г.); ее магистерская диссертация, первой за 20 лет среди томских студентов, получила медаль Российской академии наук как победитель конкурса Российской академии наук для молодых ученых и студентов вузов (2002 г.). В том же году она стала лауреатом конкурса Томской области в сфере образования и науки. Владимир чуть позже почти след в след повторил тот же путь, получив медаль Министерства образования РФ «За лучшую научную студенческую работу» по направлению «Биология» (2002 г.), став лауреатом

конкурса Томской области в сфере образования и науки среди студентов (2002 г.) и завоевав медаль Российской академии наук как победитель 14-го конкурса Российской академии наук среди студентов вузов по направлению «Биология» (2003 г.).

Исследования лаборатории в 2006–2012 гг.

Основная тема – неравновесие по сцеплению

В конце 2005 г. была утверждена новая основная тема лаборатории на срок 2006–2010 гг.: «Структура неравновесия по сцеплению, эволюция гаплотипов и генетическое разнообразие участков генома человека различной локализации в популяциях Евразии», которая впоследствии была продлена на 2011–2012 г. Цель работы заключалась в выявлении структуры неравновесия по сцеплению в некоторых участках генома человека, эволюционных и демографических факторов ее формирования. В качестве моделей анализа структуры неравновесия по сцеплению были выбраны локусы генома, представляющие особый интерес либо с точки зрения генетической истории популяций человека, либо в отношении подверженности к распространенным многофакторным болезням. В ходе выполнения работ по основной теме лаборатории был проведен молекулярно-генетический анализ структуры неравновесия по сцеплению в различных популяциях Северной Евразии по унитарным линиям Y-хромосомы, гаплотипам локуса ZFX X-хромосомы и по ряду аутосомных локусов генома, входящих в состав

наследственной компоненты таких многофакторных заболеваний, как коронарный атеросклероз, преэклампсия, алкоголизм.

В рамках новой темы был продолжен анализ филогении и филогеографии гаплогрупп Y-хромосомы в популяциях Евразии с привлечением новых популяций, новых диаллельных и микросателлитных маркеров и новых методов анализа. Было выявлено, что Y-хромосомный пул популяций Северной Евразии высоко разнообразен и представлен 16 основными кладами. Основные компоненты Y-хромосомного генного пула в Северной Евразии включают компоненты западно-евразийского (R1, I, J), протуральского (N3, N2), восточно-евразийского (O, C) и палеоазиатского (Q) происхождения. Основными факторами, определяющими генетические взаимоотношения коренных этносов Сибири, являются различное соотношение в их генофондах западно-евразийских и восточно-евразийских гаплогрупп Y-хромосомы и степень представленности уральско-самодийского компонента и палеолитического генетического субстрата. Результаты филогенетического и дисперсионного анализа показали, что состав и структура микросателлитных гаплотипов Y-хромосомы для всех основных гаплогрупп и уровень генетического разнообразия и внутриэтнической генетической дифференциации сибирских популяций в пределах отдельных линий Y-хромосомы являются высокоспецифичными для каждого этноса [54–60].

Параллельно с анализом линий Y-хромосомы в рамках темы лаборатории в 2006–2012 гг. впервые в России был проведен филогенетический и филогеографический анализ гаплотипов локуса ZFX X-хромосомы в популяциях Евразии. Было обнаружено, что в локусе ZFX наблюдается полное неравновесие по сцеплению во всех популяциях вне Африки. Древо гаплотипов ZFX имеет африканское происхождение с тремя производными от африканского корня кластерами, характеризующимися меньшей, по сравнению с Y-хромосомой, географической специфичностью, сопряженной с меньшей генетической дифференциацией популяций. При сравнении результатов анализа Y- и X-хромосомы мы показали, что Y- и X-хромосомные данные дают принципиально сходную картину кластеризации популяций, но уровень дифференциации Y-хромосомного пула в 4–5 раз выше степени дифференциации по ZFX. Северная Евразия представляет собой общее протяженное генетическое пространство с градиентно меняющимися частотами основных клад Y- и X-хромосом. В европейском генетическом ландшафте Центральная и Восточная Европа отделена выраженными генетическими барьерами от Западной Европы, Южной Европы (Балкан), Северной Европы (финны) и Урала (финно-угры Восточной Европы) [61–63].

Для анализа структуры неравновесия по сцеплению в аутомных локусах мы выбрали несколько регионов генома, в которых расположены кандидатные гены таких значимых патологических фенотипов, как ишемическая болезнь сердца и атеросклероз (ген *MTHFR*) [64–68], множественная устойчивость к лекарствам (ген *MDR1*, *CYP2C9* и др.) [69, 70], невынашивание беременности и пре-

эклампсия (гены *VEGF* и *ACVR2A*) [71–77], алкоголизм и аддитивные состояния (гены *DAT*, *CYP2E1* и др.) [78–83]. Наиболее интересные результаты в этой части работы касались связи гаплотипов локуса *MTHFR* с коронарным атеросклерозом. Были выявлены существенные различия в структуре неравновесия по сцеплению гена *MTHFR* как в популяциях различного этнического происхождения, так и в выборках из одной популяции, дифференцированных по наличию / отсутствию коронарного атеросклероза. Была обнаружена высокодостоверная ассоциация определенных гаплотипов *MTHFR* с атеросклерозом коронарных артерий при отсутствии ассоциаций на уровне отдельных SNP, а также взаимосвязь генетической вариабельности *MTHFR* с патогенетически значимыми показателями липидного обмена; продемонстрирована высокая информативность гаплотипического подхода в анализе ассоциаций с МФЗ методом случай – контроль [66–68].

Популяционно-генетические проекты

В дополнение к основной теме лаборатория продолжала активно работать по конкурсным грантовым и контрактным тематикам: за этот период было выполнено более 30 исследовательских проектов по грантам РФФИ, госконтрактам ФЦП «Исследования и разработки...», соглашениям ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России», международным грантам (см. табл. 2). Так, совместно с Университетом имени Джавахарлала Неру (г. Дели, Индия) на основании анализа филогеографии Y-хромосомной гаплогруппы R1a1 были реконструированы процессы происхождения и расселения индоевропейцев [84, 85]. Это исследование было поддержано российско-индийским грантом РФФИ и госконтрактом ФЦП «Исследования и разработки...» на проведение работ в области живых систем с участием научных организаций Индии.

В описываемый период лаборатория принимала активное участие в двух крупнейших российских популяционно-генетических проектах. Первый из них был нацелен на характеристику популяций Российской Федерации по панели локусов, используемых для ДНК-идентификации и в судебно-медицинской экспертизе, и на разработку референсных баз данных по частотам аллелей этих локусов. Проект выполнялся под руководством член-корр. (ныне – академика) РАН Н.К. Янковского совместными усилиями НИИ медицинской генетики СО РАМН (г. Томск), Института общей генетики имени Н.И. Вавилова РАН (г. Москва), Экспертно-криминалистического центра МВД РФ (г. Москва), Института биохимии и генетики УНЦ РАН (г. Уфа), Медико-генетического научного центра РАМН (г. Москва). В результате работы были охарактеризованы генетическое разнообразие и дифференциация популяций России по стандартной панели STR-маркеров, используемых для ДНК-идентификации, и впервые для российских популяций получены референсные частоты аллелей для использования криминалистами [86, 87]. Этот проект заложил основы для дальнейших фундаментальных и прикладных работ в области разработки новых подходов, методов и маркерных систем для ДНК-идентификации, которые были продолжены и

в лаборатории, и в рамках крупных российских консорциумов в последующий период.

Второй проект – первое российское полногеномное исследование генетического разнообразия в популяциях человека. Инициатором этой работы был Е.Б. Прохорчук (Центр «Биоинженерия» РАН под руководством академика РАН Н.К. Скрябина), а участниками – В.А. Степанов (НИИ медицинской генетики, г. Томск) и Э.К. Хуснутдинова (Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, г. Уфа) и их коллективы. Методической основой работы были первые полногеномные (genome-wide) биочипы компании Illumina на 370–610 тыс. генетических маркеров, распределенных по всему геному, а материалом – выборки из 34 популяций Евразии, включая Сибирь, Дальний Восток, Волго-Уральский регион, Восточную Европу, Кавказ, Среднюю Азию. Этот проект можно назвать первой работой в России в области популяционной геномики человека. Его результаты впервые были доложены на VI съезде Российского общества медицинских генетиков в г. Ростове-на-Дону в мае 2010 г., а затем представлены в устных докладах на ряде международных форумов – конференции Forensica-2010 (г. Телч, Чехия), 9-й азиатско-тихоокеанской конференции по геному человека (Гонконг) [88–90].

Исследования лаборатории в области генетики поведенческих фенотипов и аддиктивных состояний проводились и в рамках крупного международного проекта ADAMS, финансируемого 7-й рамочной программой Евросоюза. Проект ADAMS (Alzheimer's Disease, Alcoholism, Memory, Schizophrenia) был нацелен на выявление геномной вариативности, лежащей в основе поведенческих признаков, нейропсихиатрических заболеваний и когнитивных функций. Проект выполнялся консорциумом из 12 научных организаций из Германии, Швейцарии, Нидерландов, Великобритании и России. Координаторами проекта были профессор Ханс Лерах из Института молекулярной генетики Общества Макса Планка (Германия) и профессор Андреас Папассотиropулос из Университета г. Базеля (Швейцария). Задачей российской стороны было выявление вариативности генетических маркеров, ассоциированных с алкоголизмом, болезнью Альцгеймера и шизофренией в российских популяциях [91–93].

Начало исследований в области эволюционной медицины

Ряд работ лаборатории был выполнен на стыке медицинской генетики и популяционной генетики человека, которые в последующем превратились в новое важное направление работ лаборатории – эволюционную медицину [94]. Одним из исследований в этом направлении был анализ происхождения и распространения редких мутаций, приводящих к моногенным наследственным заболеваниям, специфичным для якутских популяций. В области генетики «якутских болезней» сотрудники лаборатории работали совместно с соискателями из Республики Саха (Якутия), выполнявшими диссертационные работы на базе НИИ медицинской генетики, – Н.Р. Максимовой, С.К. Степановой, Х.А. Куртановым, К.К. Павловой. В этих работах было доказано, что

популяционным механизмом накопления наследственных заболеваний в Якутии (3-М синдром; окулофарингеальная миодистрофия (ОФМД); SCOP – аутосомно-рецессивный синдром низкорослости с колбочковой дисфункцией, атрофией зрительных нервов и пельгеровской аномалией лейкоцитов; миотоническая дистрофия) является эффект основателя. Возраст мутаций, специфичных для якутов при этих болезнях, совпадает либо с докурыканским (гуннским) периодом формирования предков якутов в конце I тыс. до н. э. (ОФМД, миотоническая дистрофия), либо с двумя волнами экспансии численности якутского населения в XI и XVII вв. (3-М синдром, SCOP) [95–98].

Важным для формирования и дальнейшего развития исследований в области эволюционной медицины было сотрудничество лаборатории со Школой детского здоровья Университета Западной Австралии (г. Перт) под руководством профессора Питера Ле Сёфа. Работа была начата в 2006 г. с гранта ФЦП «Исследования и разработки...» на стажировку в Австралии, продолжена в рамках двустороннего договора о научном сотрудничестве между НИИ медицинской генетики и Университетом Западной Австралии и российско-австралийского проекта, профинансированного госконтрактом ФЦП «Исследования и разработки...» для проведения исследований в области наук о жизни с участием научно-исследовательских организаций Австралии. В этой работе мы изучили эволюцию генетического разнообразия в генах иммунного ответа в ходе расселения человека из Африки и показали, что высокая частота некоторых иммунозависимых болезней в современных популяциях человека может быть связана с изменением инфекционной нагрузки и климатических условий в ходе миграций человека из тропиков в зоны умеренного и арктического климата и сдвигом баланса между клеточным (опосредованным Т-хелперами 1) и гуморальным (Т-хелперы 2) типами иммунного ответа [99–102].

В период 2006–2012 гг. сотрудниками лаборатории было опубликовано около 160 научных работ, включая 46 статей в рецензируемых журналах (из них 21 в журналах, входящих в Web of Sciences), 2 монографии, 1 патент. Было сделано 59 докладов на научных форумах, включая устные доклады на крупных российских и международных конференциях, таких как съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, съезд Российского общества медицинских генетиков, международная конференция по геному человека (Human Genome Meeting), международный конгресс по биохимии и молекулярной биологии, конгресс азиатско-тихоокеанского общества генетики человека, азиатско-тихоокеанского общества респирологии, международный конгресс по приполярной медицине и др.

Люди и достижения

Штат лаборатории эволюционной генетики в описываемый период пополнили научный сотрудник Александр Варзарь, который приехал для продолжения работы, начатой в Университете Максимилиана-Людвига в г. Мюнхене, аспиранты Янис Пельс и Екатерина Трифонова, ставшая впоследствии штат-

ным сотрудником лаборатории. Позднее в коллектив пришли м.н.с. Ксения Симонова (Вагайцева) и Анна Бочарова. На базе лаборатории работали соискатели Н.Р. Максимова (Якутск), Хеба Гамаль Абдель Азиз Наср (Египет), К.К. Павлова, С.К. Степанова, Х.А. Куртанов (все – Якутск). Лаборатория активно развивала зарубежные связи и принимала коллег из зарубежных организаций. Так, для проведения и планирования совместных работ дважды приезжал профессор Питер Ле Сёф (Университет Западной Австралии). Амит Шривастава (Университет имени Джавахарлала Неру, Индия) стажировался в лаборатории в рамках работ по анализу Y-хромосомы. В свою очередь сотрудники лаборатории выезжали на рабочие места в г. Перт (В.А. Степанов), в Институт молекулярной генетики АН Чешской Республики (В.Н. Харьков). В.А. Степанов читал цикл лекций по генетике человека в Университете имени Джавахарлала Неру (г. Дели, Индия), проводил рабочие семинары в Институте геномных исследований (Сингапур), Институте молекулярной генетики АН Чешской республики (г. Прага), Университете г. Базеля (Швейцария).

В период 2006–2012 гг. сотрудники лаборатории защитили одну докторскую диссертацию (В.Н. Харьков), одну кандидатскую (Е.А. Трифонова) и одну диссертацию на соискание степени доктора философии (А.М. Варзарь). Под руководством В.А. Степанова также были защищены диссертации соискателей лаборатории: Н.Р. Максимова получила степень доктора медицинских наук (научные консультанты – В.П. Пузырёв и В.А. Степанов), Х. Гамаль – степень кандидата биологических наук, а К.К. Павлова – степень кандидата медицинских наук.

Лаборатория продолжала работу по сбору биологического материала и пополнению популяционных коллекций образцов ДНК. За период 2006–2012 гг. было проведено 9 экспедиций в различные уголки России – Хакасию (2007 г., 2008 г.), Приморский край (2007 г.), на Сахалин (2009 г.), в Удмуртию (2009 г.), Республику Коми (2010 г.), Калмыкию (2011 г.), Дагестан (2011 г.), Карелию (2012 г.).

Из премий и наград, полученных сотрудниками лаборатории в этот период, стоит отметить премию Томской области в сфере образования, науки, здравоохранения и культуры 2011 г. в номинации «Премии научным работникам и преподавателям, внесшим значительный личный вклад в развитие науки» (В.А. Степанов, 2011 г.), премию Хансена, присуждаемую Международным обществом приполярной медицины (В.Н. Харьков, 2006 г.), Диплом победителя конкурса Сибирского отделения РАМН в номинации «Лучший молодой научный сотрудник СО РАМН» (В.Н. Харьков, 2009 г.) и медаль РАН за лучшую магистерскую диссертацию с премией для студентов вузов (студент лаборатории К.В. Хамина, 2012 г.).

Современные исследования лаборатории

Основная тема лаборатории на 2013–2020 гг. – адаптивная эволюция генетического разнообразия в популяциях Северной Евразии

Текущая основная тема лаборатории, название которой вынесено в подзаголовок этого раздела, была утверждена ученым советом НИИ медицинской генетики и затем экспертным советом СО

РАМН в конце 2012 г. на срок 2013–2015 гг. В 2014 г. после перехода НИИ медицинской генетики в ведение ФАНО России тема, как входящая в Программу фундаментальных научных исследований (ФНИ) государственных академий наук на 2013–2020 гг., была включена в Государственное задание ФАНО НИИ медицинской генетики. Позднее в целях синхронизации сроков выполнения тем со сроками государственной Программы ФНИ решением СО РАН тема с модификацией задач и этапов работы была продлена на срок до 2020 г.

Целью работы является выявление сигналов естественного отбора в геноме и транскриптоме человека, связанных с адаптацией к климатическим условиям и распространением комплексных болезней в популяциях Северной Евразии. В рамках этой темы с помощью геномного анализа однонуклеотидных полиморфных маркеров были охарактеризованы основные компоненты генофонда населения России и сопредельных стран. Обнаружена климатическая вариабельность западно- и восточно-евразийского компонента генофондов, а также дифференциация полногеномного генетического разнообразия по оси север–юг. Продемонстрировано, что основной закономерностью структуры генофонда популяций Северной Евразии является географический характер организации генетического разнообразия, проявляющийся как кластеризация географически близких популяций вследствие формирования генофонда в основном за счет миграций и дрейфа генов. Геномный позиционный поиск позволил выявить генетические маркеры и локусы генома, несущие сигналы деканализации геном-феномных отношений и адаптации к климату. Часть вариабельности генома человека, ассоциированная со сменой среды в ходе расселения из Африки, обогащена вариантами, связанными с нейropsychиатрическими заболеваниями и поведенческими признаками, иммунными и инфекционными болезнями, ответом на ксенобиотики. Ключевые биологические процессы, в которые вовлечены эти гены и маркеры, включают регуляцию метаболизма, передачу сигналов, ответ на внешние стимулы, регуляцию нервной системы [103–106].

При анализе геномных компоненты иммунозависимых фенотипов было выявлено системное изменение частот аллелей, играющих роль в воспалительных реакциях и иммунном ответе, в популяциях человека по мере расселения из Африки. Показано, что эти изменения связаны со сменой климато-географических условий среды обитания, опосредованы естественным отбором, имеют отношение к подверженности иммунозависимым распространенным болезням и могут быть объяснены с позиций гипотезы канализации / деканализации взаимоотношений генотип–среда под действием естественного отбора. Обнаружено, что общий уровень генетического разнообразия по исследованным генам возрастает от тропической Африки к популяциям Европы и Азии, локализованным в зоне умеренного и арктического климата. Такая картина противоположна тому, что наблюдается по любым условно-нейтральным маркерам, как и ожиданиям гипотезы нейтральной эволюции. Рост разнообразия по генам, модулирующим иммунный ответ, можно интерпретировать как следствие разрушения сложившегося в предковых

популяциях равновесия (деканализацию) за счет снижения селективной значимости провоспалительных аллелей, стимулирующих Th2-ответ и (или) повышения адаптивной ценности альтернативных аллелей в новых средовых условиях умеренного / арктического климата [107–112].

Популяционная генетика и ДНК-идентификация

Дальнейшие работы лаборатории в области популяционной генетики Y-хромосомы были сконцентрированы на детальном филогенетическом анализе основных гаплогрупп, распространенных на территории Сибири, анализе родоплеменной структуры коренных народов Южной Сибири по данным мужских линий в их генофонде, поиске новых маркеров, детализирующих эволюцию и происхождение гаплогрупп [113–118]. Продолжались работы и по другим маркерным системам [119–125]. Эти исследования финансировались грантами РФФИ, РГНФ, ФЦП «Исследования и разработки...». Прикладной аспект популяционно-генетических работ лаборатории реализовался в разработке новых тест-систем и баз данных для ДНК-идентификации и криминалистики. Так, в рамках ФЦП «Исследования и разработки...» совместно с ООО «Геномная диагностика» были разработаны две генетические системы для идентификации личности в криминалистике и судебной медицине – тест-система на основе мультиплексного генотипирования микросателлитных маркеров Y-хромосомы человека и тест-система на основе мультиплексного генотипирования по технологии SNaPshot однонуклеотидных маркеров митохондриального генома человека [126, 127].

Далее, в рамках еще одного контракта по ФЦП «Исследования и разработки...» была предложена высокоинформативная тест-система SNP-маркеров X-хромосомы, основанная на мультиплексном генотипировании методом многолокусной ПЦР и MALDI-TOF масс-спектрометрии ДНК, а также созданы базы данных референсных частот SNP-маркеров X-хромосомы для популяций России [128–132]. Эта система включает 62 X-хромосомных маркера и по информативности намного опережает существующие аналоги [129].

Внедрение разработанных тест-систем в практику проводится в совместной работе со следственными комитетами регионов России и экспертно-криминалистическими лабораториями. ДНК-анализ по запросам следователей и криминалистов помог раскрыть множество преступлений. Одно из наиболее резонансных дел, раскрытых с помощью технологий, разработанных в лаборатории, – поимка маньяка-педофила, орудовавшего в г. Новосибирске более 10 лет. Это дело широко освещалось в прессе и цифровых масс-медиа [133–135].

Транскриптомика и эволюционная генетика преэклампсии

В рамках направления работ по эволюционной медицине и в продолжение исследований наследственной компоненты осложненного течения беременности в лаборатории был предложен и апробирован новый подход к поиску генетических маркеров

комплексных заболеваний человека. Подход заключается в анализе дифференциальной экспрессии у больных и в контроле, анализе роли естественного отбора в формировании вариативности регуляторных участков генома и проверке наиболее значимых регуляторных полиморфных маркеров в дизайне случай–контроль. Е.А. Трифоновой с соавторами был проведен первый в России полногеномный анализ транскриптома у больных преэклампсией и у женщин с физиологической беременностью из русской и якутской популяций. Интеграция результатов функциональной аннотации дифференциально-экспрессирующихся генов, анализа сетевых взаимодействий протеинов, кодируемых этими генами, и баз данных транскриптома плацентарной ткани позволили выделить ряд новых генов-кандидатов преэклампсии. Далее с помощью детекции сигналов естественного отбора в регуляторных областях этих генов в рамках макро- и микроэволюционных подходов выявлены наиболее значимые полиморфные маркеры, оказывающие влияние на экспрессию ДЭГ, существенная часть которых оказалась ассоциированной с заболеванием при анализе методом случай–контроль [136–139].

Эволюционная геномика нейropsychиатрических заболеваний

В 2012–2014 гг. в лаборатории при поддержке РФФИ был осуществлен проект «Этническая геномика нейropsychиатрических заболеваний в популяциях России». Проект направлен на поиск генетических маркеров, ассоциированных с болезнью Альцгеймера (БА) и шизофренией (ШЗ) в популяциях России, характеристику популяционной структуры генетического разнообразия по этим маркерам в широком массиве популяций Северной Евразии и анализ роли естественного отбора как возможного механизма формирования различий в частотах генов нейropsychиатрических болезней. В результате репликации результатов полногеномного анализа ассоциаций (GWAS) были выявлены маркеры и комбинации взаимодействующих генов, связанные с БА и ШЗ в русских популяциях и ассоциированные с ювенильной формой ШЗ в популяции казахов. Показана частичная общность генетической компоненты шизофрении в различных популяциях как при внутриэтнических (в русских популяциях), так и при межэтнических сравнениях. Обнаружены пересекающиеся поля генетических ассоциаций ШЗ и БА, демонстрирующие некоторую общность наследственной компоненты этих заболеваний. Такая общность может реализоваться, вероятно, через общие неизвестные звенья патогенеза БА и ШЗ, опосредованные когнитивными эндофенотипами. Роль естественного отбора в формировании генетического разнообразия для генов нейropsychиатрических заболеваний и их эндофенотипов оказалась более выраженной, чем для генов других мультифакторных заболеваний. Некоторые из маркеров, для которых в нашем исследовании были обнаружены ассоциации с БА или ШЗ, демонстрируют устойчивый паттерн отклонения от селективной нейтральности в ряде популяций, что позволяет сделать вывод о значимости естественного отбора в формировании

генетического разнообразия в генах, ассоциированных с БА и ШЗ, в ходе расселения современного человека [140, 141].

В продолжение этой тематики в настоящее время в лаборатории при поддержке РФФИ реализуется проект «Генетические основы вариативности когнитивных функций у людей пожилого возраста и у пациентов с болезнью Альцгеймера». На первом этапе проекта был проведен перекрестный анализ ассоциаций генетических маркеров с когнитивными параметрами и деменцией по причине болезни Альцгеймера, который выявил, что генетическая компонента нормальной вариативности когнитивных функций в пожилом возрасте и генетическая составляющая болезни Альцгеймера с поздним проявлением частично пересекаются. Те же варианты (на уровне как аллелей, так и гаплотипов), которые являются рисковыми для БА, у здоровых пожилых людей связаны с более низким когнитивным статусом. Тем самым нормальная вариативность когнитивных признаков может рассматриваться как эндотип БА. В настоящее время в рамках этого проекта проводится поиск новых маркеров вариативности когнитивных функций в пожилом возрасте на основе полногеномного секвенирования [142–144].

По результатам фундаментальных исследований в лаборатории были разработаны две новые медицинские технологии в рамках поисковых научных исследований – «Маркеры ранней неинвазивной диагностики умеренных когнитивных нарушений по причине болезни Альцгеймера с поздним началом» и «Генетическое тестирование когнитивных нарушений при болезни Альцгеймера» [145–146].

Люди и достижения

В описываемый период штат лаборатории пополнили закончившие аспирантуру сотрудники А.А. Попович (Чередниченко) и В.Н. Сереброва. В 2017 г. в аспирантуру был зачислен Н.А. Колесников и принят лаборант-исследователь А.А. Зарубин. За этот период защищено 5 кандидатских диссертаций (сотрудники лаборатории К.В. Вагайцева и А.А. Попович и соискатели А.Ю. Ворожищева, С.К. Степанова и Х.А. Куртанов). В 2013–2017 гг. сотрудники лаборатории опубликовали более 150 научных работ, включая 46 статей в рецензируемых изданиях (в том числе 26 статей в журналах, входящих в Web of Sciences), и 2 монографии. Получены 1 патент и 3 свидетельства о государственной регистрации баз данных [147–150]. В 2017 г. коллектив лаборатории стал лауреатом премии Томской области в сфере образования, науки, здравоохранения и культуры в номинации «Премии научным и научно-педагогическим коллективам».

Лаборатория продолжала активное представление результатов своих исследований на различных научных форумах (более 60 докладов). Из российских научных мероприятий, на которых сотрудниками лаборатории были сделаны устные пленарные и приглашенные доклады, можно отметить Международную конференцию «Проблемы генетики населения и этнической антропологии», посвященную памяти выдающегося генетика и антрополога Юрия Григорьевича Рычкова (г. Москва, 2013 г.), конфе-

ренцию «Высокопроизводительное секвенирование в геномике» (г. Новосибирск, 2013 г., 2017 г.), Всероссийскую научно-практическую конференцию «Молекулярная диагностика» (г. Москва, 2014 г., 2017 г.), IV Международную научно-практическую конференцию «Постгеномные методы анализа в биологии, лабораторной и клинической медицине» (г. Казань, 2014), VI съезд ВОГиС (г. Ростов-на-Дону, 2014 г.), VII съезд Российского общества медицинских генетиков (г. Санкт-Петербург, 2015 г.), Всероссийскую конференцию «50 лет ВОГиС: успехи и перспективы» (г. Москва, 2016 г.). Из ведущих международных конференций, на которых делались устные доклады, можно назвать мультikonференцию «Биоинформатика и системная биология» (BGRS, г. Новосибирск, 2014 г.); 7-ю конференцию по перспективной биологии и системной медицине (Санторини, 2014 г.); международную конференцию по геному человека (Human Genome Meeting, г. Куала-Лумпур, 2015 г.); 16-й Международный конгресс по приполярной медицине (г. Оулу, 2015 г.); 9-ю конференцию международного общества по прикладной биологии (ISABS, г. Брач, Хорватия, 2015 г.); 11- и 12-ю азиатско-тихоокеанские конференции по генетике человека (г. Ханой, 2015 г.; г. Бангкок, 2017 г.); 6-ю Панарабскую конференцию по генетике человека (г. Дубай, 2016 г.); I международную конференцию Founder Genomics (г. Хайфа, Израиль, 2016 г.); Европейскую неделю биобанков (г. Вена, 2016 г.).

Лаборатория организовала первую в России конференцию по эволюционной медицине, когда в 2014 г. X традиционная конференция «Генетика человека и патология» прошла под титулом «проблемы эволюционной медицины». В 2016 г. сотрудники лаборатории приняли активное участие в организации и проведении международной научной конференции молодых ученых «Актуальные проблемы медицинской генетики», посвященной 50-летию первого издания каталога менделевских болезней человека под редакцией Виктора Маккьюсика (г. Томск, 2016 г.).

Существенно расширилась технологическая и материальная база лаборатории. Были внедрены новые технологии – секвенирование следующего поколения, масс-спектрометрия молекул ДНК, анализ транскриптома, новые биоинформационные подходы. Продолжилось пополнение биокolleкции «Биобанк населения Северной Евразии». При поддержке РФФИ были проведены экспедиции в Карелию (2013 г.), Иркутскую область (2013 г.), а при финансировании со стороны проекта «Российские геномы» – в Хакасию (2016 г.) и в районы проживания сибирских татар в Томской области (2016 г.).

Перспективные проекты

В перспективе ближайших нескольких лет лаборатория продолжит исследования в области адаптивной эволюции генетического разнообразия в популяциях человека, популяционной геномики и эволюционной медицины. В рамках основной темы лаборатории будет продолжен поиск сигналов адаптивной эволюции в геноме человека на основе данных полногеномного и полногеномного секвенирования.

В направлении поиска эволюционно-генетических основ многофакторных заболеваний человека

будет продолжена работа над выявлением основ вариативности когнитивных функций в норме и патологии, поддерживаемая грантом РФФИ. Продолжится работа по выявлению генетической компоненты осложнений беременности в рамках эволюционно-генетических концепций. Планируется новый проект по эволюционной генетике ожирения.

В области популяционной геномики лаборатория будет работать над проблемой характеристики генофонда населения Евразии на основе анализа полных геномов. Эти исследования будут проведены, в том числе, при участии лаборатории в двух крупных геномных проектах. Первый из них – проект «Российские геномы», осуществляемый на базе Санкт-Петербургского государственного университета консорциумом российских исследователей под руководством выдающегося генетика Стивена О'Брайена. Второй – один из крупнейших международных геномных проектов «100 000 азиатских геномов», основанный Наньянским технологическим университетом (NTU), Сингапур, и компаниями «Макроген» (Корея) и «МедГеном» (США). Научный руководитель проекта – доктор Штефан Шустер (NTU, Сингапур). Первые результаты проекта «100 000 азиатских геномов» будут представлены на конференции, которой посвящен настоящий сборник.

Еще один крупный геномный проект, ориентированный на трансляцию результатов фундаментальных исследований лаборатории в практику, – Научно-техническая программа Союзного государства России и Белоруссии «Разработка инновационных географических и геномных технологий идентификации личности и индивидуальных особенностей человека на основе изучения генофондов регионов Союзного государства» («ДНК-идентификация»), стартовавшая осенью 2017 г. и рассчитанная на срок 2017–2021 гг. Руководит работой по программе, в которой участвуют ИОГен РАН (г. Москва), НИИ медицинской генетики ТНИМЦ РАН (г. Томск), МГНЦ (г. Москва), ИЦиГ СО РАН (г. Новосибирск), Институт биохимии и генетики УНЦРАН (г. Уфа), академик РАН Н.К. Янковский (ИОГен РАН). Лаборатория эволюционной генетики НИИ медицинской генетики ТНИМЦ выполняет одно из 10 мероприятий программы «ДНК-идентификация» – разработку технологии ДНК-идентификации и определения популяционной принадлежности неизвестного индивида.

Заключение

Лаборатория эволюционной генетики НИИ медицинской генетики ТНИМЦ РАН, созданная в 2000 г., прошла большой путь, став одним из ведущих научных коллективов России в области популяционной и эволюционной генетики и геномики человека. С самого начала научных исследований лаборатория зарекомендовала себя как чрезвычайно эффективно и продуктивно работающий коллектив. За эти годы опубликованы сотни научных работ, выполнены десятки научных и научно-технологических проектов, защищено полтора десятка диссертаций. Успехи лаборатории основаны на постоянном пополнении своей базы знаний, внедрении новых методов и подходов в исследования, развитии материально-технической базы института, продуктивной кооперации

с другими подразделениями института, научными организациями России и мира, постоянном акценте поиск и подготовку талантливой научной молодежи – от студентов до докторантов.

Лаборатория занимается изучением закономерностей эволюции генофонда в популяциях человека. Исследования лаборатории направлены на характеристику генофонда населения России и сопредельных стран с помощью широкого спектра генетических маркеров, генетическую реконструкцию процессов расселения современного человека в Евразии и формирования генофондов в популяциях коренных народов континента, выявление популяционно-генетических механизмов адаптации к климато-географическим условиям среды обитания и особенностей генетической структуры популяций, связанных с этими процессами, выявление эволюционно-генетических основ распространения многофакторных и менделевских заболеваний человека.

Работа лаборатории базируется на современных технологических и аналитических платформах, включая секвенирование геномов и экзоменов, масс-спектрометрию молекул ДНК, транскриптомику, биоинформатику. Возможность проведения исследований обеспечивает коллекция биологического материала «Биобанк населения Северной Евразии», насчитывающая более 20 тыс. образцов ДНК и постоянно пополняемая в экспедиционных работах.

Основные направления исследований лаборатории:

1. Популяционная геномика человека. В рамках этого направления проводится анализ генетического разнообразия по маркерам Y-хромосомы, полным геномам и экзомам, системам генетических маркеров, связанным с адаптацией к условиям среды обитания (холодному климату, высокогорью). Результаты исследований нацелены на решение как фундаментальных задач популяционной и эволюционной генетики человека (расселение человека в Евразии; роль естественного отбора в формировании генетического разнообразия в популяциях; эволюция, филогения и филогеография унитарных генетических линий), так и мультидисциплинарных научных проблем (формирование этнической структуры населения; характеристика родо-племенной структуры коренных народов Сибири и Средней Азии; взаимосвязь эволюции генофонда, культуры и языка).

2. Эволюционная медицина. Поиск генетических основ распространенных заболеваний исходя из эволюционных концепций позволяет ставить задачи понимания происхождения, распространения и поддержания патологических фенотипов в популяциях, а также осуществлять поиск новых маркеров болезней человека. На примере ряда многофакторных заболеваний и их эндофенотипов (иммунозависимые болезни, ожирение, нейро-психиатрические заболевания, когнитивные функции) в лаборатории развивается концепция деканализации геном-феномных отношений в ходе расселения современного человека. С помощью синтеза медико-генетических и эволюционно-генетических подходов проводятся исследования популяционно-генетических механизмов распространения некоторых мутаций, приводящих к моногенным заболеваниям.

3. Разработка новых подходов, методов и тест-систем для целей ДНК-идентификации и геномной медицины. Трансляция результатов фундаментальных исследований лаборатории в практику осуществляется путем разработки новых решений для задач криминалистики и судебной медицины (тест-системы для ДНК идентификации, референсные базы данных, технологии определения этнотерриториального происхождения неизвестного индивида), а также для персонифицированной медицины (новые медицинские технологии и тест-системы для диагностики многофакторных и моногенных заболеваний).

Литература

1. Абанина Т.А. Генетические и демографические характеристики популяций хантов и лесных ненцев // *Материалы 1-го Всесоюзного съезда медицинских генетиков*. 1983. С. 5–7.
2. Пузырёв В.П., Абанина Т.А., Назаренко Л.П. и др. Медико-генетическое исследование хантыйского населения сельского совета Овгорт Ямало-Ненецкого АО // *Генетика*. 1985. Т. 21, № 2. С. 332–337.
3. Кучер А.Н., Пузырёв В.П., Назаренко Л.П. Генетические процессы в сельских популяциях Томской области (характеристика миграций) // *Генетика*. 1991. Т. 27, № 6. С. 1084–1094.
4. Пузырёв В.П. Медико-генетическое исследование населения приполярных регионов. Томск: Изд-во ТГУ, 1991. 200 с.
5. Лемза С.В., Соколова О.В. Полиморфизм митохондриальной ДНК среди русского населения г. Томска // *Бюллетень СО АМН СССР*. 1991. № 2. С. 27–31.
6. Лемза С.В., Соколова О.В. Полиморфизм митохондриальной ДНК среди русского населения г. Томска // *Генетика*. 1992. Т. 28, № 5. С. 136–140.
7. Cavalli-Sforza L.L. The DNA revolution in population genetics // *Trends in Genetics*. 1998. V. 14, № 2. P. 60–65.
8. Stepanov V.A., Lemza S.V. PvuII restriction fragment length polymorphism at the lipoprotein lipase gene in Russians from West Siberia // *Hum. Hered.* 1993. V. 43, № 6. P. 388–390.
9. Stepanov V.A., Puzyrev V.P. A study of apolipoprotein B gene polymorphism in a Russian population // *Hum. Biol.* 1994. V. 66, № 3. P. 527–531.
10. Степанов В.А., Пузырёв В.П., Спиридонова М.Г., Хитринская И.Ю. Анализ полиморфизма Alu-инсерций в городской и сельской русской популяции Сибири // *Генетика*. 1999. Т. 35, № 8. С. 1138–1143.
11. Степанов В.А., Пузырёв В.П. Гаплотипы двух диаллельных локусов Y-хромосомы у коренного и пришлого населения Сибири // *Генетика*. 2000. Т. 36, № 1. С. 87–92.
12. Степанов В.А., Пузырёв В.П. Анализ аллельных частот семи микросателлитных локусов Y-хромосомы в трех популяциях тувинцев // *Генетика*. 2000. Т. 36, № 2. С. 241–248.
13. Степанов В.А., Пузырёв В.П. Микросателлитные гаплотипы Y-хромосомы демонстрируют отсутствие подразделенности и наличие нескольких компонентов в мужском генофонде тувинцев // *Генетика*. 2000. Т. 36, № 3. С. 377–384.
14. Степанов В.А., Харьков В.Н., Солтобаева Ж.О. и др. Гаплотипы Y-хромосомы в популяциях Средней Азии // *Генетика*. 2001. Т. 37, № 2. С. 191–194.
15. Пузырёв В.П., Степанов В.А., Голубенко М.В. и др. Линии мтДНК и Y-хромосомы в популяции якутов // *Генетика*. 2003. Т. 39, № 7. С. 975–981.
16. Харьков В.Н., Степанов В.А., Боринская С.А. и др. Структура генофонда восточных украинцев по гаплогруппам Y-хромосомы // *Генетика*. 2004. Т. 40, № 3. С. 326–331.
17. Харьков В.Н., Степанов В.А., Пузырёв В.П. и др. Частоты диаллельных гаплогрупп Y-хромосомы у белорусов // *Генетика*. 2005. Т. 41, № 8. С. 1132–1136.
18. Степанов В.А., Хитринская И.Ю., Пузырёв В.П. Генетическая дифференциация населения Тувы по полиморфным Alu-инсерциям // *Генетика*. 2001. Т. 37, № 4. С. 563–569.
19. Хитринская И.Ю., Степанов В.А., Пузырёв В.П. и др. Генетическое своеобразие населения Якутии по данным аутосомных локусов // *Молекулярная биология*. 2003. Т. 37, № 2. С. 234–239.
20. Хитринская И.Ю., Степанов В.А., Пузырёв В.П. Alu-повторы в геноме человека // *Молекулярная биология*. 2003. Т. 37, № 3. С. 382–391.
21. Хитринская И.Ю., Степанов В.А., Пузырёв В.П. и др. Генетическая дифференциация населения Средней Азии по данным аутосомных маркеров // *Генетика*. 2003. Т. 39, № 10. С. 1389–1397.
22. Степанов В.А., Пузырёв В.П. Популяционно-генетический анализ четырех микросателлитных локусов у населения Тувы // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2000. Т. 129, прил. 1. С. 56–59.
23. Степанов В.А., Спиридонова М.Г., Тадинова В.Н., Пузырёв В.П. Анализ генетического разнообразия популяций Северной Евразии по аутосомным микросателлитным локусам // *Генетика*. 2003. Т. 39, № 10. С. 1381–1388.
24. Степанов В.А., Спиридонова М.Г., Пузырёв В.П. Сравнительное филогенетическое исследование коренных этносов Северной Евразии по панели аутосомных микросателлитных локусов // *Генетика*. 2003. Т. 39, № 11. С. 1564–1572.
25. Шорохова Д.А., Степанов В.А., Удовенко Ю.Д. и др. Генетическая вариабельность и дискриминирующий потенциал четырех микросателлитных локусов в русской популяции // *Молекулярная биология*. 2005. Т. 39, № 6. С. 965–970.
26. Stepanov V.A., Puzyrev V.P., Karpov R.S., Kutmin A.I. Genetic markers in coronary artery disease in Russian population // *Hum. Biol.* 1998. V. 70, № 1. P. 47–57.
27. Степанов В.А., Пузырёв В.П. Геномные исследования наследственных кардиомиопатий // *Генетика*. 1998. Т. 34, № 3. С. 325–334.
28. Степанов В.А., Пузырёв В.П., Цымбалюк И.В. Роль полиморфизма генов аполипопротеина В и липазы липопротеинов в изменчивости уровня липидов плазмы крови // *Вестник РАМН*. 1998. № 10. С. 3–6.
29. Степанов В.А., Пузырёв В.П., Спиридонова М.Г. и др. Полиморфизм генов ангиотензин-превращающего фермента и эндотелиальной синтазы окиси азота у лиц с артериальной гипертензией, гипертрофией левого желудочка и гипертрофической кардиомиопатией // *Генетика*. 1998. Т. 34, № 11. С. 1578–1581.
30. Степанов В.А., Спиридонова М.Г., Пузырёв В.П., Карлов Р.С. Генетический полиморфизм аполипопротеина А1, ангиотензин-конвертирующего фермента и эндотелиальной синтазы окиси азота у больных коронарным атеросклерозом // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1999. Т. 127, прил. 1. С. 96–97.
31. Косьянкова Т.В., Пузырёв В.П., Степанов В.А. и др. Взаимосвязь полиморфизма T174M гена ангиотензиногена с клиническими проявлениями эссенциальной гипертензии // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1999. Т. 127, прил. 1. С. 98–100.
32. Степанов В.А., Пузырёв В.П., Карлов Р.С. Анализ ассоциаций полиморфизма гена ангиотензин-конвертирующего фермента с коронарным атеросклерозом, уровнем липидов и давлением крови // *Сибирский медицинский журнал*. 1998. Т. 13, № 3–4. С. 20–25.
33. Спиридонова М.Г., Степанов В.А., Пузырёв В.П., Карлов Р.С. Анализ полиморфизма гена метилентетрагидрофолатредуктазы у больных коронарным атеросклерозом // *Генетика*. 2000. Т. 36, № 9. С. 1269–1273.
34. Спиридонова М.Г., Степанов В.А., Пузырёв В.П. и др. Связь полиморфного варианта T174M гена ангиотензиногена с коронарным атеросклерозом в Томской популяции // *Молекулярная биология*. 2001. Т. 35, № 1. С. 14–18.
35. Спиридонова М.Г., Степанов В.А., Пузырёв В.П. О роли полиморфных вариантов гена 5,10-метилентетрагидро-

- фолат редуктазы (*MTHFR*) в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний // Клиническая медицина. 2001. № 2. С. 10–16.
36. Карпов Р.С., Пузырев К.В., Павлюкова Е.Н., Степанов В.А. Молекулярно-генетическая основа гипертрофии миокарда левого желудочка // Кардиология. 2001. Т. 41, № 6. С. 25–30.
 37. Spiridonova M.G., Stepanov V.A., Puzyrev V.P., Karlov R.S. The estimation of gametic disequilibrium between DNA markers in candidate genes for coronary artery disease (CAD) and the associations of gene complexes with risk factors for CAD // Int. J. Circumpolar Health. 2001. V. 60, № 2. P. 222–227.
 38. Спиридонова М.Г., Степанов В.А., Пузырёв В.П., Карпов Р.С. Анализ генных комплексов подверженности к коронарному атеросклерозу // Генетика. 2002. Т. 38, № 3. С. 383–392.
 39. Спиридонова М.Г., Степанов В.А., Максимова Н.Р., Пузырёв В.П. Популяционное исследование частоты полиморфизма С677Т гена метилентетрагидрофолат-редуктазы в Якутии // Генетика. 2004. Т. 40, № 5. С. 704–708.
 40. Марусин А.В., Степанов В.А., Спиридонова М.Г., Пузырёв В.П. Полиморфизм генов алкогольдегидрогеназы *ADH1B* и *ADH7* в русских популяциях Сибирского региона // Молекулярная биология. 2004. Т. 38, № 4. С. 625–631.
 41. Степанов В.А. Этногеомика населения Сибири и Средней Азии // Медицинская генетика. 2002. Т. 1, № 3. С. 113–123.
 42. Степанов В.А. Этногеомика населения Северной Евразии. Томск: Печатная мануфактура, 2002. 244 с.
 43. Кучер А.Н., Ондар Э.А., Степанов В.А. и др. Тувинцы: гены, демография, здоровье. Томск: Печатная мануфактура. 2003. 232 с.
 44. Степанов В.А. Этногеомика и наследственные основы широко распространенных болезней // Вестник РАМН. 2003. № 12. С. 85–88.
 45. Пузырёв В.П., Степанов В.А., Назаренко С.А. Геномные исследования наследственной патологии и генетического разнообразия сибирских популяций // Молекулярная биология. 2004. Т. 38, № 1. С. 129–138.
 46. Степанов В.А. Генетическое разнообразие и этногенез тувинцев // Вестник этнической медицины. 2004. Т. 1, № 1. С. 22–27.
 47. Степанов В.А., Харьков В.Н., Пузырёв В.П. Эволюция и филогеография линий Y-хромосомы человека // Вестник ВОГиС. 2006. Т. 10, № 1. С. 57–73.
 48. Kivisild T., Rootsi S., Metspalu M. et al. The genetic heritage of the earliest settlers persists both in Indian tribal and caste populations // Am. J. Hum. Genet. 2003. V. 72, № 2. P. 313–332.
 49. Tambets K., Tolk H.V., Kivisild T. et al. Complex signals for population expansions in Europe and beyond. In: Examining the farming / language dispersal hypothesis / Eds. Peter Bellwood and Colin Renfrew. Cambridge, 2003. Ch. 35. P. 449–457. (McDonald Institute Monograph series,).
 50. Reidla M., Kivisild T., Metspalu E., et al. Origin and Diffusion of mtDNA Haplogroup X // Am. J. Hum. Genet. 2003. V. 73, № 6. P. 1178–1190.
 51. Loogvali E.L., Roostalu U., Malyarchuk B.A. et al. Disuniting Uniformity: A Pied Cladistic Canvas of mtDNA Haplogroup H in Eurasia // Mol. Biol. Evol. 2004. V. 21, № 11. P. 2012–2021.
 52. Varzari A., Stephan W., Stepanov V. et al. Population history of the Dniester-Carpathians: evidence from Alu markers // J. Hum. Genet. 2007. № 2. P. 1434–1443.
 53. Tamm E., Kivisild T., Reidla M. et al. Beringian Standstill and Spread of Native American Founders // Plos ONE. 2007. V. 2, № 9. e829. P. 1–9.
 54. Харьков В.Н., Степанов В.А., Медведева О.Ф. и др. Различия в структуре генофондов северных и южных алтайцев по гаплогруппам Y-хромосомы // Генетика. 2007. Т. 43, № 5. С. 675–687.
 55. Харьков В.Н., Степанов В.А., Медведева О.Ф. и др. Происхождение якутов: анализ гаплотипов Y-хромосомы // Молекулярная биология. 2008. Т. 42, № 2. С. 226–237.
 56. Varzari A., Kharkov V., Stephan W. et al. Searching for the origin of Gagauzes: Inferences from Y-chromosome analysis // Am J. Hum. Biol. V. 21, № 3. P. 226–236.
 57. Харьков В.Н., Медведева О.Ф., Лузина Ф.А. и др. Сравнительная характеристика генофонда телеутов по данным маркеров Y-хромосомы // Генетика. 2009. Т. 45, № 8. С. 1132–1142.
 58. Штыгашева О.В., Агеева Е.С., Харьков В.Н., Степанов В.А. Гены и болезни хакасов. Красноярск: Поликор, 2010. 296 с.
 59. Skobeltzyna L.M., Pyshnyi D.V., Ivanova E.M. et al. Short Oligonucleotide Tandem Ligation Assay for Genotyping of Single-Nucleotide Polymorphisms in Y Chromosome // Molecular Biotechnology. 2010. V. 45, № 1. P. 1–8.
 60. Харьков В.Н., Хамина К.В., Медведева О.Ф. и др. Разнообразие генофонда хакасов: внутриэтническая дифференциация и структура гаплогрупп Y-хромосомы // Молекулярная биология. 2011. Т. 45, № 3. С. 448–458.
 61. Stepanov V.A., Khitrinskaya I.Y. X-chromosomal haplotypes in global human populations // Europ. J. Hum. Genet. 2009. V. 17, Suppl. 2. P. 268.
 62. Степанов В.А. Генетическая история населения Евразии. Данные Y- и X-хромосомных гаплотипов и аутосомных SNP // Тезисы V съезда Вавиловского общества генетиков и селекционеров. Москва, 21–28 июня 2009 г. М., 2009. Ч. 1. С. 503.
 63. Хитринская И.Ю., Харьков В.Н., Степанов В.А. Генетическое разнообразие X-хромосомы в популяциях коренных этносов Сибири: структура неравновесия по сцеплению и филогеография гаплотипов локуса ZFX // Молекулярная биология. 2010. Т. 44, № 5. С. 804–815.
 64. Трифонова Е.А., Спиридонова М.Г., Степанов В.А. Генетическое разнообразие и структура неравновесия по сцеплению в локусе MTHFR // Генетика. 2008. Т. 44, № 10. С. 1410–1419.
 65. Трифонова Е., Спиридонова М., Пузырёв В., Степанов В. Структура гаплотипов локуса метилентетрагидрофолат-редуктазы: популяционная специфичность и ассоциация с атеросклерозом коронарных артерий // Медицинская генетика. 2009. № 1. С. 39–47.
 66. Трифонова Е.А., Спиридонова М.Г., Максимова Н.Р. и др. Генетическое разнообразие и структура гаплотипов локуса MTHFR в якутской популяции // Якутский медицинский журнал. 2009. Т. 26, № 2. С. 40–42.
 67. Трифонова Е.А., Еремينا Е.Р., Урнов Ф.Д., Степанов В.А. Генетическое разнообразие и структура неравновесия по сцеплению гена *MTHFR* в популяциях Северной Евразии // Acta Naturae. 2012. Т. 4, № 1. С. 80–96.
 68. Трифонова Е.А., Спиридонова М.Г., Габидулина Т.В. и др. Анализ структуры неравновесия по сцеплению и ассоциации полиморфных вариантов гена *MTHFR* с коронарным атеросклерозом // Генетика. 2012. Т. 48, № 10. С. 1207–1220.
 69. Пельс Я.Р., Марусин А.В., Спиридонова М.Г., Степанов В.А. Полиморфизм гена *MDR1* в популяциях Сибири и Средней Азии // Молекулярная биология. 2007. Т. 41, № 6. С. 982–988.
 70. Makeeva O., Stepanov V., Puzyrev V. et al. Global pharmacogenetics: genetic substructure of Eurasian populations and its effects on variants of drug metabolizing enzymes // Pharmacogenomics. 2008. V. 9. P. 847–868.
 71. Спиридонова М.Г., Трифонова Е.А., Фадюшина С.В. и др. Молекулярно-генетический анализ полиморфных маркеров генов, ответственных за функционирование факторов эндотелиальной системы в связи с осложнённым протеканием беременности // Медицинская генетика. 2007. Т. 6, № 7. С. 38–42.
 72. Трифонова Е.А., Спиридонова М.Г., Степанов В.А., Пузырёв В.П. Роль полиморфных вариантов некоторых генов, участвующих в развитии эндотелиальной дисфункции, в формировании гестоза // Молекулярная медицина. 2009. № 1. С. 3–8.
 73. Павлова К.К., Трифонова Е.А., Готовцева Л.В. и др. Роль полиморфизмов генов *eNOS*, *ACE* и *MTHFR* в развитии

- гестоза в якутской популяции // Якутский медицинский журнал. 2010. Т. 31, № 3. С. 29–32.
74. Трифонова Е.А., Габидулина Т.В., Агаркова Т.А. и др. Гомотистеин, полиморфизмы гена *MTHFR* и осложнения беременности // Акушерство и гинекология. 2011. № 2. С. 8–15.
 75. Павлова К.К., Трифонова Е.А., Готовцева Л.В. и др. Клинические особенности гестоза в якутской популяции // Якутский медицинский журнал. 2011. Т. 34, № 2. С. 86–89.
 76. Трифонова Е.А., Едачева А.А., Павлова К.К. и др. Ассоциации tagSNP и гаплотипов гена *VEGF* с развитием гестоза в популяциях различного этнического происхождения // Медицинская генетика. 2012. № 1. С. 28–35.
 77. Ворожищева А.Ю., Трифонова Е.А., Бутко Ю.К. и др. Роль генетической вариативности локуса *ACVR2A* в формировании подверженности к преэклампсии // Медицинская генетика. 2013. Т. 12, № 10. С. 35–40.
 78. Марусин А.В., Степанов В.А., Спиридонова М.Г. и др. Полиморфизм генов этанол-метаболизирующих ферментов *ADH1B*, *ADH7* и *CYP2E1* и риск развития алкоголизма в русской популяции Западно-Сибирского региона // Медицинская генетика. 2006. Т. 5, № 7. С. 51–56.
 79. Марусин А.В., Степанов В.А., Спиридонова М.Г. и др. Анализ ассоциаций генетического полиморфизма ферментов метаболизирующих этанол *ADH1B*, *ADH7* и *CYP2E1* с риском формирования коронарного атеросклероза // Генетика. 2007. Т. 43, № 3. С. 409–416.
 80. Марусин А.В., Спиридонова М.Г., Абушаева М.О. и др. Ассоциация полиморфизма 1342 A/G в экзоне 9 и длин тандемных повторов (VNTR) в 3'-некодирующей области (3'-UTR) гена переносчика дофамина *DAT1* (*SLC6A3*) с риском формирования алкогольной зависимости в Западно-Сибирской популяции русских // Медицинская генетика. 2008. № 6. С. 31–35.
 81. Borinskaya S., Marusin A., Kal'ina N. et al. Distribution of alcoholism protecting alcohol dehydrogenase *ADH1B**47His allele in Eurasia // Amer. J. Hum. Genet. 2009. V. 84, № 1. P. 89–94.
 82. Li H., Borinskaya S., Yoshimura K. et al. Refined Geographic Distribution of the Oriental *ALDH2**504Lys (nee 487Lys) Variant // Ann Hum Genet. 2009. V. 73, № 3. P. 335–345.
 83. Марусин А.В., Максимова Н.Р., Матвеева Н.П. и др. Ассоциация полиморфизма генов переносчика дофамина *DAT1* (*SLC6A3*) и этанол-метаболизирующих ферментов *ADH1B* и *CYP2E1* с риском формирования алкогольной зависимости в якутской популяции // Якутский медицинский журнал. 2009. Т. 26, № 2. С. 148–150.
 84. Степанов В.А., Харьков В.Н., Хитринская И.Ю. и др. Работы по проведению проблемно-ориентированных поисковых исследований и созданию научно-технического задела в области живых систем с участием научных организаций Индии // Тезисы 8-й Международной конференции «Живые системы и биологическая безопасность населения» Москва, 17–18 ноября 2009 г. С. 93–94.
 85. Stepanov V.A., Kharkov V.N. Origin and dispersion of Indo-Europeans: phylogeography of R1a1 Y-chromosomal lineage // The sevens ISABS conference in forensic, anthropology and medical genetics and Mayo Clinic lectures in translational medicine: Final Program and Abstracts. 2011. P. 163.
 86. Stepanov V.A., Melnikov A.V., Lash-Zavada A.Y. et al. Genetic variability of 15 autosomal STR loci in Russian populations // Legal Medicine. 2010. V. 12, № 5. P. 256–258.
 87. Степанов В.А., Балановский О.П., Мельников А.В. и др. Характеристика популяций Российской Федерации по панели пятнадцати локусов, используемых для ДНК-идентификации и в судебно-медицинской экспертизе // Acta Naturae. 2011. Т. 3, № 2. С. 59–71.
 88. Степанов В.А., Прохорчук Е.Б., Хуснутдинова Э.К. и др. Евразийский генетический ландшафт: геногеография в зеркале полногеномной вариативности // Материалы VI Российского съезда общества медицинских генетиков. Ростов-на-Дону, 14–18 мая 2010 г. // Медицинская генетика. 2010. с. 171.
 89. Stepanov V.A., Prokhorchuk E.B., Khusnutdinova E.K. et al. Genetic diversity in Eurasia revealed by whole-genome SNPs // Forensica 2010: The second international conference on forensic genetics. 24–26 May 2010. Telc, Czech Republic: Conference Proceedings. P. 29–30.
 90. Stepanov V.A., Prokhorchuk E.B., Khusnutdinova E.K. et al. Eurasian genetic landscape: Gene geography in the mirror of Genome-wide variability // 9th Asian Pacific Conference on Human Genetics. Hong Kong. 29 Nov. – 6 Dec. 2010. Program and Abstracts. P. 118–119.
 91. Stepanov V.A. Genetic markers associated with common mental and neurological disorders demonstrate wide variability in North Eurasian populations // Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. 2010. V. 48, № 8. P. A59.
 92. Голенкина С.А., Гольцов А.Ю., Кузнецова И.Л. и др. Анализ общего полиморфизма в гене кластерина (*CLU/APOJ*) при болезни Альцгеймера в российских популяциях // Молекулярная биология. 2010. Т. 44, № 4. С. 620–626.
 93. Низамутдинов И.И., Андреева Т.В., Степанов В.А. и др. Биочип для выявления генетических маркеров риска развития спорадической формы болезни Альцгеймера у славянского населения России // Молекулярная биология. 2013. Т. 47, № 6. С. 949–958.
 94. Степанов В.А. Геномы, популяции, болезни: этническая геномика и персонализированная медицина // Acta Naturae. 2010. № 4. С. 18–34.
 95. Максимова Н.Р., Николаева И.А., Коротов М.Н. и др. Клинико-генеалогическая и молекулярно-генетическая характеристика окулофарингеальной миодистрофии в республике Саха (Якутия) // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2008. Т. 108, № 6. С. 52–60.
 96. Куртанов Х.А., Максимова Н.Р., Марусин А.В., Степанов В.А. Полиморфизм локуса ОФМД в популяциях Якутии // Якутский медицинский журнал. 2009. Т. 26, № 2. С. 52–54.
 97. Спиридонова М.Г., Трапп Н.В., Степанова С.К. и др. Анализ полиморфных маркеров в гене мышечной протеинкиназы и ассоциация с миотонической дистрофией в якутской популяции // Якутский медицинский журнал. 2009. Т. 26, № 2. С. 156–159.
 98. Галеева Н.М., Воевода М.И., Спиридонова М.Г. и др. Популяционная частота и возраст мутации с.806С>Т в гене *CYB5R3*, являющейся причиной наследственной метгемоглобинемии первого типа в Якутии // Генетика. 2013. Т. 49, № 4. С. 523–530.
 99. Stepanov V., Khoo S.-K., Bizzantino J. et al. Variability in inflammatory immune response genes in human populations of North Eurasia // Europ. J. Hum. Genet. 2007. V. 15, Suppl. 1. P. 1179. P. 296.
 100. Candelaria P.V., Stepanov V., Backer V. et al. Climate influences the evolution of the human immune response // The Thoracic Society of Australia and New Zealand. Annual Scientific Meeting (TSANZ 2007). 25–28 March 2007. Auckland (New Zealand). Respiriology. V. 12, Suppl. 1. P. A70.
 101. Candelaria P., Khoo S.K., Hayden C. et al. Distribution of Th1/Th2 protective immune responses in modern humans. Molecular Evolution as a Driving Force in Infectious Diseases (D4) // Part of the Keystone Symposia Global Health Series. April 8–13, 2008. Beaver Run Resort. Breckenridge, Colorado.
 102. Candelaria P., Zhang G., Khoo S.K. et al. Natural selection and the immune response: the role of ancestral climate on the adaptation of TH1-TH2 immunity in modern humans // The Toracic Society of Australia and New Zealand Annual Meeting. TP197. P. 54.
 103. Степанов В.А. Генетическое разнообразие популяций человека и проблемы эволюционной медицины // Генетика человека и патология. Проблемы эволюционной медицины: сборник научных трудов. Томск, 2014. Вып. 10. С. 7–17.
 104. Степанов В.А. Эволюция генетического разнообразия и болезни человека // Генетика. 2016. Т. 52, № 7. С. 852–864.
 105. Stepanov V.A., Vagaitseva K.V., Bocharova A.V., Kharkov V.N. Development of multiplex genotyping method of

- polymorphic markers for genes involved in human adaptation to cold climate // *Science Evolution*. 2016. V. 1, № 2. P. 92–101.
106. Степанов В.А., Харьков В.Н., Вагайцева К.В. и др. Поиск генетических маркеров адаптации к климату у населения Северной Евразии // *Генетика*. 2017. Т. 53 (в печати).
 107. Степанов В.А., Канделария П., Кхо С. и др. Декаанизация иммунного ответа при расселении современного человека: связь генетического разнообразия в генах иммунной системы с климато-географическими факторами // *Медицинская генетика*. 2013. Т. 12, № 4. С. 8–18.
 108. Степанов В.А., Трифонова Е.А., Симонова К.В., Чердниченко А.А. Вариабельность генов интерлейкина 4 и его рецептора в популяциях коренных народов Сибири // *Медицинская генетика*. 2013. Т. 12, № 4. С. 38–40.
 109. Степанов В.А., Трифонова Е.А. Мультиплексное генотипирование однонуклеотидных полиморфных маркеров методом MALDI-TOF масс-спектрометрии: частоты 56 SNP в генах иммунного ответа в популяциях человека // *Молекулярная биология*. 2013. Т. 47, № 6. С. 976–986.
 110. Чердниченко А.А., Трифонова Е.А., Вагайцева К.В. и др. Связь полиморфизма генов цитокинов и их рецепторов в популяциях человека с климатическими и географическими факторами // *Генетика*. 2014. Т. 50, № 10. С. 1254–1258.
 111. Чердниченко А.А., Трифонова Е.А., Вагайцева К.В. и др. Распространенность аллелей полиморфных вариантов генов, ассоциированных с иммунозависимыми заболеваниями, в популяциях Северной Евразии // *Молекулярная биология*. 2015. Т. 49, № 6. С. 984–992.
 112. Чердниченко А.А., Степанов В.А., Трифонова Е.А. и др. Связь генетического разнообразия по полиморфным вариантам генов, ассоциированных с иммунозависимыми фенотипами, с распространенностью инфекционных и паразитарных заболеваний в популяциях человека // *Медицинская генетика*. 2016. Т. 15, № 5. С. 56–60.
 113. Varzari A., Kharkov V., Nikitin A.G. et al. Paleo-Balkan and Slavic contributions to the genetic pool of Moldavians: insights from the Y chromosome // *PLoS ONE*. 2013. 8 (1). e53731.
 114. Харьков В.Н., Хамина К.В., Медведева О.Ф. и др. Структура генофонда тувицев по маркерам Y-хромосомы // *Генетика*. 2013. Т. 49, № 12. С. 1416–1425.
 115. Харьков В.Н., Хамина К.В., Медведева О.Ф. и др. Генофонд бурят: клинальная изменчивость и территориальная подразделенность по маркерам Y-хромосомы // *Генетика*. 2014. Т. 50, № 2. С. 203–213.
 116. Харьков В.Н., Степанов В.А. Разнообразие населения Якутии по данным Y-хромосомы // *Генетические исследования населения Якутии / под ред. В.П. Пузырёва, М.И. Томского*. Якутск, 2014. С. 61–77.
 117. Глазунова Е.О., Харьков В.Н., Раджабов Н.О. и др. Генофонд коренных народов Дагестана цезской группы по маркерам Y-хромосомы // *Медицинская генетика*. 2016. Т. 15, № 4. С. 29–31.
 118. Харьков В.Н., Новикова Л.М., Лузина Ф.А. и др. Анализ генофонда и родоплеменной структуры шорцев по маркерам Y-хромосомы // *Медицинская генетика*. 2016. Т. 15, № 5. С. 48–51.
 119. Хитринская И.Ю., Харьков В.Н., Воевода М.И., Степанов В.А. Генетическое разнообразие и взаимоотношения популяций Северной Евразии по полиморфным инсерциям Alu-элемента // *Молекулярная биология*. 2014. Т. 48, № 1. С. 69–80.
 120. Сваровская М.Г., Степанова С.К., Марусин А.В. и др. Генетическая вариабельность и структура SNP-гаплотипов в гене *DMPK* у якутов и других этносов Северной Евразии в связи с миотонической дистрофией // *Генетика*. 2015. Т. 51, № 6. С. 724–732.
 121. Makeeva O.A., Sleptsov A.A., Kulish E.V. et al. Genomic study of cardiovascular continuum comorbidity // *Acta Naturae*. 2015. V. 7, № 3 (26). P. 67–78.
 122. Сваровская М.Г., Степанова С.К., Марусин А.В. и др. Анализ СТГ-повторов в гене *DMPK* в популяциях Якутии, Сибири и Средней Азии // *Медицинская генетика*. 2015. Т. 14, № 7. С. 17–20.
 123. Сваровская М.Г., Марусин А.В., Тачеева Т.И. и др. Анализ 8 полиморфных Alu-элементов в популяции телеутов // *Генетика*. 2015. Т. 51, № 8. С. 963–966.
 124. Марусин А.В., Куртанов Х.А., Максимова Н.Р. и др. Гаплотипический анализ локуса оculoфарингеальной мидоistroфии (ОФМД) в Якутии // *Генетика*. 2016. Т. 52, № 3. С. 376–384.
 125. Polonikov A.V., Vykanova M.A., Ponomarenko I.V. et al. The contribution of *CYP2C* gene family involved in epoxygenase pathway of arachidonic acids metabolism to hypertension susceptibility in Russian population // *Clin. Experim. Hypertens*. 2017. V. 39, № 4. P. 306–311.
 126. Харьков В.Н., Вагайцева К.В., Степанов В.А. Применение маркеров Y-хромосомы для ДНК-идентификации // *Сборник тезисов молодежной конференции «Популяционная генетика и геногеография: наука и практика», посвященной памяти выдающегося генетика и антрополога Юрия Григорьевича Рычкова*. М.: ИОГен РАН, 2013. С. 18.
 127. Харьков В.Н., Вагайцева К.В., Степанов В.А. Определение этнотерриториального происхождения индивида с помощью филогеографического анализа гаплотипов Y-хромосомы // VIII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Молекулярная диагностика-2014»: сб. науч. тр. / отв. ред. В.И. Покровский. М., 2014. Т. 2. С. 327–328.
 128. Вагайцева К.В., Харьков В.Н., Черпинская К.В. и др. Генетическая вариабельность X-сцепленных STR-маркеров в популяциях Сибири // *Молекулярная биология*. 2015. Т. 49, № 2. С. 305–312.
 129. Stepanov V., Vagaitseva K., Kharkov V. et al. Forensic and population genetic characteristics of 62 X chromosome SNPs revealed by multiplex PCR and MALDI-TOF mass spectrometry genotyping in 4 North Eurasian populations // *Legal Medicine*. 2016. V. 18. P. 66–71.
 130. Степанов В.А., Вагайцева К.В., Харьков В.Н. и др. Вариабельность и идентификационный потенциал 60 X-хромосомных SNPs в двух популяциях коренного населения Сибири // *Генетика*. 2016. Т. 52, № 4. С. 493–496.
 131. Степанов В.А., Вагайцева К.В., Харьков В.Н. и др. Панель однонуклеотидных, сцепленных с X-хромосомой, полиморфных маркеров для ДНК-идентификации (XSNPid) на основе мультиплексного генотипирования с использованием методов многолокусной пcr и масс-спектрометрии MALDI-TOF // *Молекулярная биология*. 2016. Т. 50, № 3. С. 445–456.
 132. Вагайцева К.В., Харьков В.Н., Степанов В.А. Взаимоотношения популяций мира по SNP маркерам X-хромосомы, входящим в состав тест-системы для ДНК-идентификации XSNPid // *Медицинская генетика*. 2016. Т. 15, № 4. С. 10–13.
 133. Комякова Е. Схватили за ген, или как сибирские ученые помогли поймать серийного педофила // *Комсомольская правда*. 2015. 18 февр. <https://www.kp.md/daily/26344.4/3226459/>
 134. Бухаев В. Маньяк из Бурятии 10 лет терроризировал Новосибирск. 2015. 10 июля. <http://www.infpol.ru/news/incidents/67238-manyak-iz-buryatii-10-let-terroriziroval-novosibirsk/>
 135. Боринская С. Российско-белорусская ДНК-дактилоскопия поможет в борьбе с преступностью // *Коммерсантъ-наука*. 2015. № 06. <https://www.kommersant.ru/doc/2835930>
 136. Трифонова Е.А., Габидулина Т.В., Ершов Н.И. и др. Характеристика транскрипта плацентарной ткани у женщин с физиологической беременностью и преэклампсией // *Acta Naturae*. 2014. Т. 6, № 2. С. 16–30.
 137. Трифонова Е.А., Габидулина Т.В., Бухарина И.Ю., Степанов В.А. Роль факторов наследственной предрасположенности в развитии преэклампсии: обзор данных метаанализов // *Молекулярная медицина*. 2016. № 1. С. 8–14.
 138. Сереброва В.Н., Трифонова Е.А., Степанов В.А. Роль регуляторных участков гена *CORO2A* в формировании

- наследственной предрасположенности к преэклампсии // Медицинская генетика. 2016. Т. 15, № 5. С. 32–34.
139. Сереброва В.Н., Трифонова Е.А., Габидуллина Т.В. и др. Выявление новых маркеров предрасположенности к преэклампсии путем анализа регуляторных участков генов, дифференциально экспрессирующихся в плацентарной ткани // Молекулярная биология. 2016. Т. 50, № 5. С. 870–879.
140. Степанов В.А., Бочарова А.В., Марусин А.В. и др. Репликативный анализ ассоциаций генетических маркеров когнитивных признаков с болезнью Альцгеймера в российской популяции // Молекулярная биология. 2014. Т. 48, № 6. С. 952–962.
141. Степанов В.А., Бочарова А.В., Садуакасова К.З. и др. Репликативное исследование подверженности шизофрении с ранним началом у казахов // Генетика. 2015. Т. 51, № 2. С. 227–235.
142. Марусин А.В., Корнетов А.Н., Сваровская М.Г. и др. Ассоциация генов подверженности к алкоголизму, шизофрении и болезни Альцгеймера с психодиагностическими признаками в популяции русских // Бюллетень сибирской медицины. 2016. Т. 15, № 5. С. 83–96.
143. Бочарова А.В., Степанов В.А., Марусин А.В. и др. Анализ ассоциаций генетических маркеров шизофрении и ее когнитивных эндофенотипов // Генетика. 2017. Т. 53, № 1. С. 100–108.
144. Вагайцева К.В., Бочарова А.В., Марусин А.В. и др. Разработка метода мультиплексного генотипирования полиморфных маркеров генов, ассоциированных с когнитивными способностями // Генетика. Т. 53, № 1. С. 100–108.
145. Макеева О.А., Маркова В.В., Минайчева Л.И. и др. Маркеры ранней неинвазивной диагностики умеренных когнитивных нарушений по причине болезни Альцгеймера с поздним началом: методические рекомендации по медицинским технологиям диагностики и лечения хромосомных, орфанных и многофакторных заболеваний человека / под ред. проф. В.А. Степанова. Новосибирск: Академиздат, 2016. С. 229–244.
146. Макеева О.А., Бочарова А.В., Вагайцева К.В. и др. Генетическое тестирование когнитивных нарушений при болезни Альцгеймера: методические рекомендации по медицинским технологиям диагностики и лечения хромосомных, орфанных и многофакторных заболеваний человека / под ред. В.А. Степанова. Новосибирск: Академиздат, 2016. С. 245–260.
147. Трифонова Е.А., Степанов В.А., Симонова К.В., Бочарова А.В., Чередниченко А.А., Харьков В.Н. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2013620960 «База данных по частотам аллелей генов иммунного ответа». Правообладатель: ФГБУ «НИИ медицинской генетики» СО РАМН. Дата государственной регистрации 21 августа 2013 г.
148. Вагайцева К.В., Харьков В.Н., Хитринская И.Ю., Степанов В.А. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2014621137 «База данных по частотам аллелей микросателлитных маркеров X-хромосомы в популяциях северной Евразии». Правообладатель: ФГБУ «НИИ медицинской генетики» СО РАМН. Дата государственной регистрации 13 августа 2014 г.
149. Степанов В.А., Харьков В.Н., Голубенко М.В., Симонова К.В., Бочарова А.В. Синтетические олигонуклеотидные праймеры и способ выявления генотипов для идентификации личности с помощью системы микросателлитных ДНК-маркеров Y-хромосомы: патент на изобретение № 2528742. Зарегистрирован в Государственном реестре изобретений РФ 24 июля 2014.
150. Вагайцева К.В., Харьков В.Н., Степанов В.А., Бочарова А.В., Чередниченко А.А. База данных по частотам аллелей SNP маркеров в популяциях Евразии. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2016620669. Дата государственной регистрации 25 мая августа 2016 г.

Раздел 2

ПОПУЛЯЦИОННАЯ И ЭВОЛЮЦИОННАЯ ГЕНЕТИКА

ПОЛНОГЕНОМНЫЙ ПОИСК ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ АДАПТАЦИИ К УСЛОВИЯМ СРЕДЫ В ПОПУЛЯЦИЯХ СИБИРИ

К.В. Вагайцева¹, А.В. Марков¹, GenomeAsia 100K Consortium²,
В.Н. Харьков^{1,2}, В.А. Степанов^{1,2}

¹ НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

² GenomeAsia100K Consortium, Nanyang Technological University, Singapore

В ходе расселения *Homo sapiens* по территории земного шара популяции современного человека адаптировались к различным факторам внешней среды, включая климатические изменения, инфекционную нагрузку, диету. Адаптация генетической структуры популяции к условиям среды опосредована естественным отбором и может происходить за счет изменения частот аллелей имеющих полиморфных вариантов, а также возникновения и распространения новых мутаций, создавая популяционно-специфические характеристики генофонда и генетического разнообразия по генам, участвующим в формировании адаптивно значимых фенотипов. Показана генетическая адаптация к типам питания [1–3], климату [3], эндемичным патогенам [4] и т.д. Развитие технологии массового параллельного секвенирования и накопление данных о геномах индивидов, принадлежащих к популяциям, проживающим в различных климатических условиях, позволяют проводить поиск маркеров адаптации, опираясь не только на физиологические механизмы, но и непосредственно на генетическую структуру популяции.

В данной работе был проведен поиск генетических маркеров, специфичных для популяций коренного населения Сибири и Северной Азии: якутов, бурят, тувинцев, кетов, хантов, эвенков, чукчей, алтайцев. Данные о геномах 40 индивидов были получены в рамках проекта «100 000 азиатских геномов» (GenomeAsia 100K). Секвенирование проводилось на платформе Illumina HiSeq. Для аннотирования данных использовали ресурс ANNOVAR [5]. Фильтрация полученных результатов осуществлялась с помощью языка программирования для статистической обработки данных R в графическом интерфейсе RStudio (<https://www.r-project.org>) и Microsoft Excel. Для анализа функциональных категорий генов использовали веб-ресурс WebGestalt (WEB-based GENE Set Analysis Toolkit, <http://www.webgestalt.org>). Оценку обогащения проводили с помощью метода ORA (overrepresentation enrichment analysis), в качестве референса выбирали геном человека.

Поиск и фильтрацию полиморфных генетических маркеров, специфичных для популяций Сибири и Северной Азии, проводили в несколько этапов. В первую очередь были отобраны маркеры, альтернативный аллель которых не регистрировался или встречался с частотой ниже 5% в мировых популяциях по данным проектов «1 000 геномов» и «ExAc»,

но частота которого составляла не менее 50% в каждой из исследуемых сибирских популяций. Полиморфные точки генома, глубина прочтения которых была ниже 10 хотя бы в одном из 40 образцов, были исключены из анализа. Общее число таких маркеров составило 20 242, включая 1 662 точечные мутации и 18 580 инсерций / делеций. На втором этапе были отобраны потенциально функционально-значимые маркеры, расположенные в экзонах, 3'- и 5'-нетранслируемых областях белок-кодирующих генов. В результате такого отбора был сформирован перечень маркеров, включающий в себя 86 однонуклеотидных и 221 инсерционно-делеционных полиморфных вариантов в области 214 белок-кодирующих генов.

Функциональные характеристики полученного набора 214 генов проанализировали с помощью метода ORA. Анализ показал, что большая часть генов отвечает за биологическую регуляцию и метаболические процессы. В частности, 22 гена вовлечены в транспорт веществ, 4 гена отвечают за регуляцию производства интерлейкина-1, 4 гена вовлечены в регуляцию сокращения сердечной мышцы и движение актиновой нити, 10 генов вовлечены в регуляцию процессов роста, 7 отвечают за синаптическую пластичность, а 2 – за регуляцию выделения гамма-аминомасляной кислоты. Сокращение списка до 11 функционально значимых полиморфизмов (несинонимичные замены, мутации сдвига рамки считывания) отразило взаимосвязь этой подгруппы генов с негативной регуляцией фагоцитоза ($p = 1,22e^{-05}$) и эндоцитоза ($p = 2,21e^{-04}$), а также с локомоторными ритмами ($p = 1,79e^{-05}$) и циркадным поведением ($p = 2,32e^{-04}$), что, вероятно, отражает адаптацию коренных жителей Сибири к особенностям патогенной нагрузки и длительности светового дня.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 15-04-02442).

Литература

1. Sabeti P.C., Varilly P., Fry B. et al. Genome-wide detection and characterization of positive selection in human populations // *Nature*. 2007. V. 449, № 7164. P. 913–918.
2. Bersaglieri T., Sabeti P.C., Patterson N. et al. Genetic signatures of strong recent positive selection at the lactase gene // *Am. J. Hum. Genet.* 2004. V. 74, № 6. P. 1111–1120.
3. Fumagalli M., Moltke I., Grarup N. et al. Greenlandic Inuit show genetic signatures of diet and climate adaptation // *Science*. 2015. V. 349, № 6254. P. 1343–1347.

4. *Fumagalli M., Sironi M., Pozzoli U. et al.* Signatures of environmental genetic adaptation pinpoint pathogens as the main selective pressure through human evolution // *PLoS Genet.* 2011. V. 7, № 11. e1002355.

5. *Wang K., Li M., Hakonarson H.* ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data // *Nucleic Acids Res.* 2010. V. 38, № 16. e164.

СТРУКТУРА ГЕНОФОНДА ТРЕХ ТУВИНСКИХ РОДОВ ПО ДАННЫМ О ПОЛИМОРФИЗМЕ SNP-МАРКЕРОВ Y-ХРОМОСОМЫ

Л.Д. Дамба^{1,2}, Б.Б. Монгуш⁴, А.Т. Агджоян^{2,3}, М.К. Жабагин⁷, Ю.М. Юсупов⁸, Ю.В. Богунов³, Ж.М. Сабитов⁹, М.И. Чухряева^{2,3}, О.А. Балаганская^{2,3}, Х.Д. Дибирова², А.Г. Романов², Р.А. Схаляхо^{2,3}, М.А. Кузнецова, Ж.А. Кагазежева⁷, И.Е. Альборова¹⁰, М.Б. Лавряшина⁶, У.Н. Кавай-оол⁵, Е.В. Балановская², О.П. Балановский^{2,3}

¹ НИИ медико-социальных проблем и управления Республики Тыва, г. Кызыл, Россия

² Медико-генетический научный центр, г. Москва, Россия

³ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, г. Москва, Россия

⁴ Тувинский институт гуманитарных и прикладных социально-экономических исследований, г. Кызыл, Россия

⁵ Тувинский государственный университет, г. Кызыл, Россия

⁶ Кемеровский государственный университет, г. Кемерово, Россия

⁷ National Laboratory Astana, Назарбаев Университет, г. Астана, Казахстан

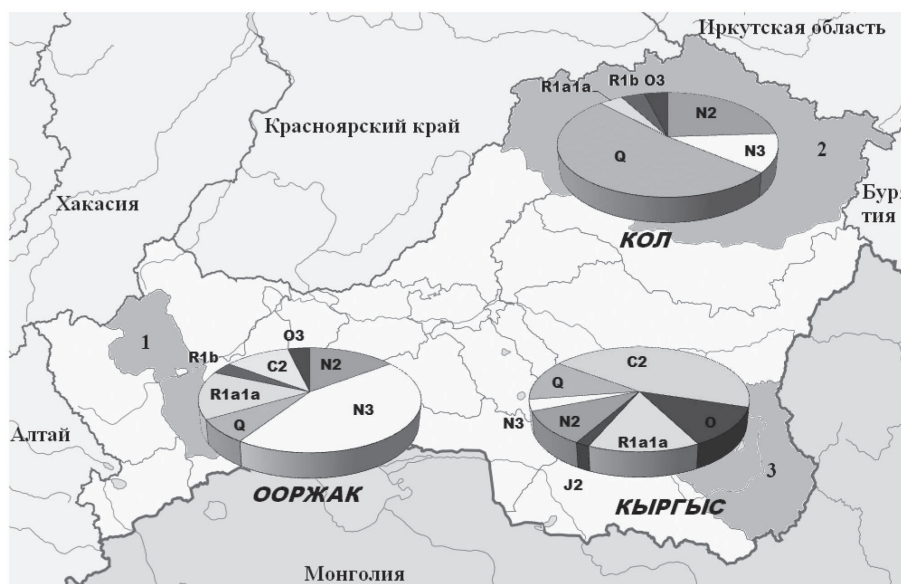
⁸ Институт стратегических исследований Республики Башкортостан, г. Уфа, Россия

⁹ Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, г. Астана, Казахстан

¹⁰ Московский физико-технический институт (государственный университет), г. Долгопрудный, Россия

Впервые изучены генофонды трех тувинских родов по SNP-маркерам Y-хромосомы и прослежены их генетические связи с популяциями Южной Сибири и Центральной Азии: род **ооржак** ($n = 27$) Барун-Хемчикского кожууна (западная группа, характерно преобладание южно-сибирского антропологического типа); род **кол** ($n = 25$) Тоджинского кожууна (северо-восточная группа, преобладание катангского антропологического типа); род **кыргыз** ($n = 56$) Тере-Хольского кожууна (юго-восточная группа, преобладание саянского антропологического типа). Основу генофондов родов **ооржак** и **кол** составляют североазиатские гаплогруппы Q, N2a, N3a5, N3b, на их долю приходится 67 и 84% соответственно (рисунок). Однако мажорные гаплогруппы у них разные: на западе у рода **ооржак** преобладает гаплогруппа N3(M178) с частотой 60%, а на северо-востоке у

рода **кол** – гаплогруппа Q–52%. На юго-востоке основу генофонда рода **кыргыз** составляют восточноевропейские гаплогруппы C2(M217), C2b2(M48), C2c(P53.1), C2e1a(M407), O1a, O3 с частотой регистрации 58%. Гаплогруппа C2 является мажорной (45%), причем в результате полногеномного секвенирования Y-хромосомы проведен глубокий анализ гаплогруппы C2(M217) и открыты новые субгаплогруппы. Выражены четкие различия между родами по частоте восточноевропейских гаплогрупп C2, O1a, O3: у рода **кыргыз** – 58%, **ооржак** – 15%, **кол** – 4%. Род **кол** в условиях географической изоляции в горно-таежных районах сохранил древний «сибирский» пласт в своем генофонде. При этом западноевропейская гаплогруппа R1a1a(x458), маркирующая «палеоевропейский» компонент, составляет около 15% родов **кыргыз** и **ооржак**, но редка у рода **кол**.



Спектры гаплогрупп Y-хромосомы родов **ооржак**, **кол** и **кыргыз**: 1 – Барун-Хемчикский кожуун; 2 – Тоджинский кожуун; 3 – Тере-Хольский кожуун. Секторы на диаграммах отражают долю гаплогрупп в генофонде

В генетическом пространстве многомерного шкалирования роды **ооржак** и **кол** кластеризуются с южносибирскими популяциями, а род **кыргыз** занимает промежуточное положение между южносибирским и центральноазиатским кластерами, что согласуется с историко-этнографическими данными о тесных контактах южных групп тувинцев с монголами (использованы частоты гаплогрупп Y-хромосомы популяций из базы данных «Y-base», разработанной под руководством О.П. Балановского).

Итоги исследования позволяют предположить, что генофонд коренного населения Тывы сформировался на едином самодийско-кетском или же угор-

ском субстрате, но фактор природной среды сыграл значительную роль в формировании особенностей их генофондов: в рефугиумах западных и северо-восточных горно-таежных районов сохранился значительный пласт древних генофондов (роды **ооржак** и **кол**), а в степных районах, граничащих с монгольскими популяциями (род **кыргыз**), наблюдается наибольшее влияние восточно-азиатской экспансии.

Исследование поддержано грантами РНФ № 17-14-01345, РФФИ № 17-06-00472, программой Президиума РАН «Генофонды живой природы», МОН РК № 0115РК01931.

ВРЕМЕННАЯ ДИНАМИКА ЧАСТОТ РЯДА АБАЗИНСКИХ ФАМИЛИЙ

Г.И. Ельчинова^{1,2}, А.Х.-М. Макаев³, Р.А. Биканов¹, А.Н. Петрин², Р.А. Зинченко^{1,4}

¹ Медико-генетический научный центр, г. Москва

² Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова Минздрава России, г. Москва

³ Хабезская центральная районная больница, а. Хабез, Карачаево-Черкесская Республика

⁴ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России, г. Москва

Генетико-эпидемиологическое обследование населения Карачаево-Черкесии проводится сотрудниками лаборатории генетической эпидемиологии ФГБНУ «Медико-генетический научный центр» с 2013 г. в соответствии со стандартным протоколом, включающим и изучение популяционно-генетических характеристик.

Фамилии давно и успешно используются в качестве квазигенетического маркера при изучении популяций человека с традиционным патроклинным наследованием фамилий. Однако реальная популяция существует не только в пространстве, но и во времени; соответственно, частоты фамилий могут изменяться со временем, как и частоты генов. Впервые проблема «выживания» фамилий поставлена в конце XIX в. Использование баз данных обязательного медицинского страхования (ОМС), содержащих сведения о реально проживающем, а не просто зарегистрированном населении, позволяет разделить популяцию на три поколения: пострепродуктивная часть, возраст 46 лет и старше (группа «Пожилые»); репродуктивная часть, возраст 18–45 лет (группа «Взрослые»); дорепродуктивная часть, возраст 0–17 лет (группа «Дети»). Использована база данных ОМС для Абазинского района Карачаево-Черкесии за 2014 г.

Абазины составляют 86% населения района. Численность всех трех возрастных групп различна, дети составляют 22,6% популяции, взрослые – 41,9%, пожилые – 35,5%. Выбраны очень частые фамилии (ОЧФ), частота которых превышает 1% хотя бы в одной из возрастных групп. Всего таких фамилий оказалось 25 (таблица). Заметим, что частота некоторых фамилий меняется значительно. Существенно уменьшилось количество Куджевых (1,04% → 0,97% → 0,34%), возросло количество Шовгеновых (0,76% → 0,97% → 1,29%). Покинули группу ОЧФ Аджиевы, Апсовы, Джужуевы, Камовы и Нировы, вошли в нее Дагужиевы и Чуковы.

Изменение частот абазинских фамилий в трех поколениях, %

Фамилия	Демографические группы		
	Пожилые	Взрослые	Дети
Аджиев	1,24	1,03	(0,71)
Айсанов	1,32	1,38	1,23
Апсов	1,09	1,38	(0,95)
Биджев	1,24	1,17	1,23
Дагужиев	(0,57)	(0,75)	1,12
Джужуев	1,02	1,05	(0,92)
Ионов	1,41	1,54	1,36
Камов	1,21	1,11	(0,85)
Кармов	1,30	1,19	1,77
Кишмахов	2,19	2,06	2,31
Копсергенов	1,98	1,51	2,62
Куджев	1,04	(0,97)	(0,34)
Кунижев	1,24	1,13	1,26
Малхозов	1,71	1,21	1,57
Меремкулов	1,72	2,11	2,08
Муков	1,00	1,03	1,12
Накохов	1,00	1,26	1,06
Ниров	1,09	1,03	(0,89)
Пазов	1,06	(0,99)	1,33
Харатоков	1,39	1,15	1,87
Хачуков	2,32	1,98	2,45
Цеков	2,13	1,17	1,91
Чикатуев	2,21	1,84	1,57
Чуков	(0,85)	(0,81)	1,50
Шовгенов	(0,76)	(0,97)	1,29

Примечание. В скобках приведены значения < 1%.

Наиболее интересным представляется изменение случайного инбридинга F_{ST} , подсчитанного стандартным способом как четверть от суммы квадратов частот фамилий для популяции ранга «район». Значение F_{ST} в группе «Пожилые» составило 0,00185, в группе «Взрослые» – 0,00176, в группе «Дети» – 0,00200 и при округлении значений во всех трех

группах было равно 0,002. Результат не является неожиданным. Ранее при повторном генетико-эпидемиологическом обследовании населения Кировской области (через поколение) по стандартному протоколу мы показали устойчивость параметров фамильной структуры для популяций ранга «район». Соответственно, можно прогнозировать относительную стабильность груза менделирующей моногенной наследственной патологии, находящейся в прямой зависимости от уровня случайного инбридинга, что неоднократно было зафиксировано как отече-

ственными, так и зарубежными исследователями в различных популяциях человека.

Авторы благодарны всем сотрудникам местного здравоохранения, принимавшим участие в организации экспедиционного обследования населения Карачаево-Черкесии. Работа выполнена в рамках плановых исследований лаборатории генетической эпидемиологии ФГБНУ «МГНЦ» при частичной финансовой поддержке РФФИ (№ 15-04-01859, 17-04-00288) и РНФ (№ 17-15-01051).

СТРУКТУРА ГЕНОФОНДОВ ТОБОЛО-ИРТЫШСКИХ И БАРАБИНСКИХ ТАТАР ПО ДАННЫМ О ПОЛИМОРФИЗМЕ Y-ХРОМОСОМЫ

Д.О. Имекина¹, А.Д. Падюкова^{1,2}, А.Т. Агджоян^{3,4}, О.А. Балаганская³, Р.А. Схаляхо^{4,3}, Ю.М. Юсупов⁵, Ж.М. Сабитов⁶, М.Б. Лавряшина¹, Е.В. Балановская⁴, О.П. Балановский^{3,4}

¹ Кемеровский государственный университет, г. Кемерово, Россия

² Кемеровский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Кемерово, Россия

³ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, г. Москва, Россия

⁴ Медико-генетический научный центр, г. Москва, Россия

⁵ Институт стратегических исследований Республики Башкортостан, г. Уфа, Россия

⁶ Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, г. Астана, Казахстан

Сибирские татары – коренное население Западной Сибири с обширным ареалом проживания вплоть до предгорьев Кузнецкого Алатау. В их составе выделяют барабинскую, тоболо-иртышскую и томскую группы, включающие более 20 подгрупп. Генофонд сибирских татар стал систематически исследоваться в работах, инициированных в 2012 г. Медико-генетическим научным центром в сотрудничестве с Кемеровским государственным университетом [1–3]. В настоящее время изучены генофонды пяти подгрупп тоболо-иртышских татар Тюменской области (бухарская, искеро-тобольская, иштякско-тогузская, ялуторовская, ясколбинская) и две подгруппы барабинских татар Новосибирской области (барабинско-турашская, любейско-тунусская). Суммарный объем выборки – 516 человек.

Биологические образцы (венозная кровь) собиравались в сопровождении генеалогических карт и письменных информированных согласий волонтеров на участие в исследовании. Выборку формировали по принципу «трех поколений»: в нее включались только индивиды, все предки которых на протяжении трех поколений относили себя к одной и той же подгруппе сибирских татар. Генофонды изучили по 50 SNP-маркерам Y-хромосомы – одной из наиболее информативных современных генетических систем. Геномную ДНК выделяли из венозной крови экстракцией смеси фенола и хлороформа после обработки протеиназой К. Генотипирование проводили методом ПЦР в реальном времени, применяя TaqMan-зонды, на амплификаторе ABI7900HT. Генетическую дифференциацию исследованных популяций оценивали с помощью анализа молекулярной дисперсии F_{ST} (AMOVA).

Выявлена уникальность «генетических портретов» каждой из изученных этнографических групп сибирских татар. В их суммарном генофонде из 33 выявленных гаплогрупп более трети представлено «паневразийскими» гаплогруппами N1-LLY22g, R1a1'4-M198,

R1b1-P297*. «Сибирская» гаплогруппа Q-M242 составляет около пятой части генофонда и столько же – «переднеазиатские» гаплогруппы E2a-M35, G2a-P15, I2a'c-P37.2, J1-M267, J2-M172. Средние частоты остальных 24 гаплогрупп не превышают 3%.

Тоболо-иртышские татары – самая крупная группа сибирских татар по численности, территории расселения и разнообразию подгрупп. В их генофонде типичные «сибирские» гаплогруппы N2a1-P43 и Q-M242 составляют около четверти генофонда; треть генофонда приходится на долю «паневразийских» гаплогрупп N1-LLY22g и R1a1'4-M198; комплекс «переднеазиатских» гаплогрупп E2a-M35, G2a-P15, I2a'c-P37.2, J1-M267, J2-M172 охватывает еще четверть генофонда, а суммарный вклад «восточноазиатских» гаплогрупп C2-M217, O2-M122, O2'5-P31 составляет лишь 5%.

Барабинские татары – вторая по численности группа сибирских татар. Так же как и у тоболо-иртышских татар, треть генофонда у них приходится на «паневразийские» гаплогруппы N1-LLY22g, R1a1'4-M198, R1b1-P297*; еще треть генофонда формирует «сибирская» гаплогруппа Q-M242; комплекс «переднеазиатских» гаплогрупп не превышает 7%. В отличие от тоболо-иртышских татар, в популяциях барабинских татар не обнаружены «восточноазиатские» гаплогруппы C2-M217, O2-M122, O2'5-P31.

«Генетические портреты» подгрупп тоболо-иртышских и барабинских татар уникальны и отражают своеобразие этногенеза каждой подгруппы.

Пять «генетических портретов» тоболо-иртышских татар. В генофонде искеро-тобольских татар три гаплогруппы – N1-LLY22g, R1a1'4-M198 и Q-M242 – охватывают более половины генофонда. В популяции иштякско-тогузских татар мажорной является гаплогруппа Q-M242 (более трети генофонда), половину генофонда составляют R1a1'4-M198, G2a-P15, I2a'c-P37.2, N1-LLY22g. Три четверти генофонда изолированной популяции ясколбинских (забо-

лотных) татар представлено гаплогруппой N2a1-P43. У ялуторовских татар мажорной оказалась «переднеазиатская» гаплогруппа J2-M172 (на ее долю приходится более трети генетического разнообразия этой популяции), а еще треть генофонда составляют «паневразийские» (N1-LLY22g, R1a1'4-M198, R1b1-P297*) и «восточноазиатская» (C2-M217) гаплогруппы. Более трети генофонда татар-бухарцев составляет «переднеазиатская» гаплогруппа G2a-P15, еще одну треть – сочетание трех других «переднеазиатских» гаплогрупп – E2a-M35, I2a'c-P37.2 и J2-M172. Последняя треть генофонда татар-бухарцев приходится на гаплогруппы N2a1-P43, N1-LLY22g и R1a1'4-M198.

Два «генетических портрета» барабинских татар. В популяции барабинско-турашских татар на мажорную «сибирскую» гаплогруппу Q-M242 приходится почти половина генофонда, а еще треть составляют гаплогруппы N1-LLY22g и R1a1'4-M198. «Генетический портрет» любейско-тунусских татар в равной мере образуют «сибирская гаплогруппа» Q-M242 и «паневразийские» N1-LLY22g, R1a1'4-M198 и R1b1-P297*; оставшуюся часть составляют «переднеазиатские» гаплогруппы E2a-M35, I2a'c-P37.

Анализ межпопуляционной дифференциации тоболо-иртышских и барабинских татар выявил высокую гетерогенность их генофондов ($F_{ST} = 18\%$). Генетические различия между пятью подгруппами

тоболо-иртышских татар ($F_{ST} = 20\%$) значительно выше, чем между двумя подгруппами барабинских татар ($F_{ST} = 5\%$).

В целом полученные результаты указывают на уникальность процессов формирования генофондов каждой их подгрупп сибирских татар на основе разных компонентов. Однако основные составляющие генофонда сибирских татар связаны с Сибирью и северной полосой Евразии.

Исследование поддержано грантами РНФ № 17-14-01345, РФФИ № 17-06-00472, программой Президиума РАН «Генофонды живой природы», РФФИ № 17-309-50002.

Литература

1. Агджоян А.Т., Балановская Е.В., Падюкова А.Д. и др. Генофонд сибирских татар: пять субэтносов – пять путей этногенеза // Молекулярная биология. 2016. Т. 50, № 6. С. 978–991.
2. Балановская Е.В., Агджоян А.Т., Жабагин М.К. и др. Татары Евразии: своеобразие генофондов крымских, поволжских и сибирских татар // Вестник Московского университета. Сер. XXIII, Антропология. 2016. № 3. С. 75–85.
3. Ульянова М.В., Лаверяшина М.Б., Долинина Д.О. и др. Трехпоколенная динамика особенностей воспроизводства локальных популяций // История и культура татар Западной Сибири. Казань: Ин-т истории им. Ш. Марджани АН РТ, 2015. С. 586–593.

АНТРОПОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ПРОГНОЗУ РИСКОВ ГЕНЕТИЧЕСКИ ДЕТЕРМИНИРОВАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

А.И. Козлов^{1,2}, Г.Г. Вершубская¹

¹ НИИ и музей антропологии им. Д.Н. Анучина МГУ, г. Москва

² Пермский государственный гуманитарно-педагогический университет, г. Пермь

Согласно постулатам эволюционной медицины, для прогноза рисков потерь от заболеваний с наследственной компонентой важно раскрыть антропоэкологические причины популяционного разнообразия генофондов. С этих позиций рассмотрим специфику селективного давления на генотипы APOE (rs429358 и rs7412), LCT (rs4988235), VDR (rs10735810, rs1544410, rs731236), N-ацетилтрансферазы NAT2 (7 основных SNPs) в группах, хозяйственно-культурная адаптация которых в доисторическом прошлом основывалась на различных вариантах природопользования.

Хозяйственно-культурный тип (ХКТ) определяет как комплекс особенностей хозяйства и культуры, складывающийся у различных народов, находящихся на близких уровнях социально-экономического развития и обитающих в сходных естественно-географических условиях. Обычно выделяют три крупных ХКТ (охота / собирательство и рыболовство; ручное земледелие и скотоводство; пашенное земледелие), но возможно и более дробное деление. Принадлежность к ХКТ влияет на специфику потребностей в энергии и веществе и пути удовлетворения этих потребностей. Формируются устойчивые варианты питания, закрепляющиеся в виде традиций. Но то, что люди едят, определяется, помимо доступности ресурсов, культуры и технологий, генетически детерминированной способностью усваивать то

или иное вещество. В результате связанные с ХКТ традиции питания выступают в качестве фактора генно-культурной коэволюции. Условия среды обитания, природопользования и характера питания отражаются в характерных для популяции генотипах, детерминирующих различные этапы метаболизма.

Аполипопротеин Е (апоЕ) занимает важное место в системе метаболизма, регулируя, помимо прочего, ход обмена липидов (в особенности холестерина). Функциональные особенности белка апоЕ зависят от специфики его строения, определяемой полиморфным геном APOE. Носительство APOE*ε4 коррелирует с принадлежностью к ХКТ, снижаясь от охотников-собирателей к земледельцам ($R_{sp} = -0,21$; $p < 0,001$). Охотники-собиратели характеризуются большей долей носителей *ε4, по сравнению с представителями иных ХКТ, вне зависимости от географической широты и характера биотопа. Этот факт получает удовлетворительное объяснение с позиций концепции «экономного генотипа». Носители *ε4 способны полнее усваивать жиры, что дает преимущества при образе жизни и питания охотников-собирателей, не имеющих стабильного доступа к липидам. При переходе к производящему хозяйству с повышением доли потребляемых жиров и снижением уровня физической активности аллель *ε4 стал дезадаптивным. Анализ распространенности генотипа APOE*ε4/ε4 и его возможного вклада в заболеваемость болез-

нами системы кровообращения в ХКТ показал, что в наиболее уязвимом положении оказываются находящиеся на «модернизационном переломе» популяции с высокой долей носителей *e4, такие как восточные финны и в особенности коренные народы Севера, у которых заболеваемость болезнями системы кровообращения превысила данный показатель населения мегаполисов РФ [1, 2].

Природные условия Европы характеризуются низким уровнем УФ-облучения и дефицитом содержащих витамин D и кальций природных продуктов, но благоприятны для мелкостадного животноводства, ориентированного на разведение молочных пород. В итоге сформировались диеты с высоким потреблением молока и молочных продуктов, компенсировавших недостаток кальция, что стимулировало позитивный отбор по аллелю T*LCT (фенотип – стабильная с возрастом выработка лактазы). При этом в регионах с уровнем УФ-облучения, достаточным для стабильной в течение года продукции витамина D (южнее 40° с. ш.), носительство C/C*LCT (фенотип – гиполактазия) оставалось повышенным ($r = 0,47$; $p < 0,001$). Во внутриконтинентальных регионах селективное давление по T*LCT сочеталось с отбором генотипов VDR, детерминирующих повышенную чувствительность тканей к витамину D [3]. В результате в северо-европейских популяциях распределение генотипов FokI и BsmI (VDR) различается у носителей генотипов C/C* и T*LCT ($pF = 0,037$; $n = 226$). Ограниченная гиполактазией возможность получения кальция отчасти компенсировалась повышенной чувствительностью тканей к регулятору минерального обмена – витамину D. Арктические, субарктические и приморские группы адаптировались к недостатку УФ-радиации путем формирования специфических диет, преимущественно с высоким содержанием жиров рыб и морского зверя, обеспечивающих высокое поступление жирорастворимого витамина D. В итоге распределение генотипов LCT и VDR различается не только в группах, относящихся к разным расам, но и у европеоидов Северной и Южной Европы, а также в популяциях с исторически разными вариантами природопользования.

Энзим NAT2 участвует в связывании ксенобиотиков. Сочетания гаплотипов гена NAT2 проявляются в трех фенотипах (быстрые, промежуточные, медленные ацетиляторы). У быстрых ацетиляторов связывание ксенобиотиков происходит в верхних от-

делах ЖКТ (полость рта, пищевод), у медленных – в толстом кишечнике. Охотники-собиратели характеризуются повышенной долей быстрых ацетиляторов – 26%, медленных – 35%; у земледельцев – 10 и 58%, соответственно. Процент медленных ацетиляторов проявляет связь со вкладом в диету белков ($R_{sp} = -0,38$), жиров ($R_{sp} = -0,39$) и углеводов ($R_{sp} = +0,36$), отражая изменения питания в ходе смены ХКТ. Наш анализ подтвердил наличие селективного давления в пользу медленной ацетиляции в историческом прошлом в связи с типом питания группы [4]. В качестве возможных факторов рассмотрены ответы на нарастание объема ксенобиотиков при: а) повышении температуры обработки пищи в высокоразвитых обществах; б) увеличении контактов с продуктами распада фолатов в диетах земледельцев.

Итак, в определенных антропоэкологических условиях под влиянием природных, культурных и технологических факторов формируются специфические генные комплексы. При быстрой (в историческом масштабе) смене образа жизни адаптивные в прошлом генотипы могут не отвечать новым условиям среды обитания. Анализ потерь от сердечно-сосудистых, метаболических и эндокринных заболеваний в популяциях коренного населения арктических регионов и бореальной зоны показал, что риски для популяционного здоровья особенно высоки при переходе от посттрадиционного к модернизированному образу жизни и питания [1, 5].

Исследование поддержано грантом РФФИ № 15-04-02309.

Литература

1. Козлов А.И., Козлова М.А., Вершубская Г.Г., Шилов А.Б. Здоровье коренного населения Севера РФ: на грани веков и культур. Пермь: РИО ПГГПУ, 2012. 159 с.
2. Kozlov A.I., Borinskaya S.A., Sanina E.D. The APOE gene $\epsilon 4/\epsilon 4$ "thrifty genotype" and risk of metabolic disorders in populations of the Ural region // Russian Journal of Genetics: Applied Research. 2012. V. 2 (2). P. 135–140.
3. Козлов А.И., Вершубская Г.Г., Негашева М.А. Связь относительного содержания костной ткани с полиморфизмом гена рецептора витамина D // Физиология человека. 2017. Т. 43 (3). С. 122–127.
4. Luca F., Bubba G., Basile M. et al. Multiple advantageous amino acid variants in the NAT2 gene in human populations // PLoS ONE. 2008. V. 3 (9). P. 3136–3147 (e3136).
5. Kozlov A., Lisitsyn D. Arctic Russia // Health Transitions in Arctic Populations / T. Kue Young and P. Bjerregaard (eds.). Toronto: University of Toronto Press, 2008. P. 71–102.

МОНИТОРИНГ СЕЛЬСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ ШОРЦЕВ И ТЕЛЕУТОВ: ВОСПРОИЗВОДСТВО, СРЕДА, ГЕНЫ

М.Б. Лавряшина¹, М.В. Ульянова¹, В.В. Поддубиков¹, В.И. Минина^{1, 2}, А.В. Мейер¹,
А.В. Ларионов¹, Т.А. Толочко¹, А.В. Понасенко³, Т.А. Мулерова³, В.Г. Дружинин¹

¹ Кемеровский государственный университет, г. Кемерово

² Институт экологии человека Федерального исследовательского центра угля и углехимии СО РАН, г. Кемерово

³ НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, г. Кемерово

Обсуждаются данные, полученные в многолетних исследованиях коренных малочисленных народов (КМН) Кемеровской области – шорцев и телеутов – научными группами Кемеровского государственного университета, Института экологии

человека и НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний. Адаптационные ресурсы и особенности воспроизводства сельских популяций КМН исследовались с использованием методов и подходов генетической демографии, популяционной

и экологической генетики. Мониторингом охвачены практически все места компактного расселения телеутов и шорцев в Кемеровской области. Изучены материалы архивов за 1940–2015 гг.: 18 775 записей книг похозяйственного учета сельского населения, 386 актов ЗАГС о заключении браков. Проанализировано 303 истории родов и 340 анкет, заполненных на женщин старше 45 лет. Исследованы биологические образцы (венозная кровь и буккальный эпителий): 239 – для цитогенетического тестирования, 1 014 – для гентипирования аутосомных ДНК-маркеров. Физико-химическими и биоиндикационными методами проанализирована мутагенность образцов воды и почвы, собранных в местах компактного проживания КМН.

Исследование комплекса параметров (рождаемость, брачность, миграции, заболеваемость) позволяет утверждать, что особенности динамики численности шорцев и телеутов, фиксируемые в официальных переписях населения (1926, 1989, 2002, 2010 гг.), объясняются не только фактической демографической убылью шорцев, но и особенностями этнической идентичности, которая у шорцев в последние десятилетия переживала период глубоких трансформаций под воздействием комплекса социально-экономических и политических факторов. Телеуты оказываются более консолидированной в отношении этнического самосознания группой, что влияет на стабильность их численности. При этом собственно демографическая составляющая развития КМН демонстрирует тенденцию к последовательному сокращению численности как у шорцев, так и у телеутов, находясь под комплексным влиянием различных факторов риска депопуляции: генетико-демографических, медико-биологических, социально-культурных и т.д.

Половозрастная структура (1940–2015 гг.) сельских шорцев и телеутов позволяет прогнозировать дальнейшее снижение общей численности из-за дисбаланса соотношения полов в репродуктивной части популяции, суженного типа воспроизводства и модели старения населения – «старение снизу». Брачно-миграционная структура отражает усиление процессов межэтнического смешения при снижении уровней эндогамии и инбридинга. Повышение доли однонациональных браков отмечено только у телеутов Беловского района. Динамика показателей репродукции неудовлетворительная: зарегистрировано снижение уровня рождаемости. К позитивным показателям можно отнести снижение за поколение у КМН среднего уровня дорепродуктивных потерь, который в популяциях шорцев в 5,9 раз выше, чем у телеутов. Пренатальные потери у шорцев в 2,7 раза выше, чем у телеутов.

Биологическую адаптацию популяции к факторам окружающей среды в значительной мере определяет ее генофонд. Напряжение и срыв адаптационных механизмов проявляются в уровне и темпах мутирования, структуре заболеваемости населения. Анализ данных районных больниц за 2013–2015 гг. выявил территориальные вариации в структуре детской заболеваемости и количественные различия в структуре заболеваемости взрослого населения в популяциях шорцев и телеутов. Болезни системы

кровообращения лидируют в структуре заболеваемости шорцев и телеутов (1-е и 2-е ранговые места). Наиболее распространенная форма – артериальная гипертензия (АГ) – регистрируется в популяциях КМН с разной частотой: у шорцев Междуреченского района – 17,8%, у телеутов Гурьевского района – 16,2%, Беловского района – 5,2%, у шорцев Таштагольского района – 4,4%.

Анализ полиморфизма генов, ассоциированных с предрасположенностью к АГ, продемонстрировал специфический характер распределения частот аллелей полиморфных вариантов генов *ACE*rs4646994*, *TPA25*rs4646972*, *ApoA1*rs3138522*, *PV92*rs3138523*, *Alu-F13B* (rs нет), *AGTR1*rs5186*, *AGT*rs4762*, *ADRB1*rs1801252*, *MTHFR*rs1801131* и их сочетаний в популяциях КМН. Так, частота аллеля *ACE*D* у шорцев Таштагольского района составила лишь 0,292, а у шорцев Междуреченского района оказалась в 1,3 раза выше – 0,379 ($p > 0,05$). Исследование образцов ДНК шорцев с диагнозом АГ выявило еще более высокую частоту данного аллельного варианта (0,420).

Распространенность другого класса патологий – болезней органов дыхания – также варьирует в популяциях КМН. У телеутов Гурьевского района частота регистрации этой группы болезней в 1,5 раза выше, чем у телеутов Беловского района. У шорцев Междуреченского района – в 2,2 раза выше, чем у шорцев Таштагольского района. Исследование генов биотрансформации ксенобиотиков *CYP2E1*rs3813867*, *CYP1A1* Ile462Val, *PON1*rs662*, *GSTP1*rs1695*, *GSTP1*rs1138272*, *GSTM1*(del), *GSTT1*(del) продемонстрировало сходство генетической структуры шорцев и телеутов. В целом в генофонде КМН Кемеровской области присутствуют как «протективные» аллели, так и аллели «риска», приводящие к синтезу белков со сниженной или утраченной функциональной активностью. В исследованных популяциях выявлена низкая частота аллеля *GSTM1*del*, при котором синтез соответствующей трансферазы не происходит. У шорцев и телеутов частота этого аллеля составляет 0,107 и 0,108 соответственно, что в 2–4 раза ниже, чем у ряда коренных народов Западной Сибири (у селькупов – 0,200, у ненцев – 0,353) и русских Сибири (0,481) [1].

Исследование мутагенности факторов окружающей среды и мутационного груза показало, что темпы мутагенеза, проявляющегося на хромосомном уровне, у телеутов находятся в пределах фоновых показателей, свойственных населению Кемеровской области, а у шорцев повышены. Методы биоиндикации и радиометрии выявили повышенную мутагенность факторов окружающей среды в местах расселения телеутов в Гурьевском районе, а шорцев – в Междуреченском. При этом только у шорцев Междуреченского района болезни онкологического профиля зарегистрированы как у взрослых, так и у детей. А у телеутов Гурьевского района (взрослое население) частота новообразований в 2 раза выше, чем у телеутов Беловского района. Исследование полиморфных вариантов генов репарации ДНК *APEX1*rs1130409*, *XRCC1*rs1799782*, *XRCC1*rs25489*, *XRCC1*rs25487*, *hOGG1*rs1052133*, *ADPRT*rs1136410*, *XPC*rs2228001*, *XPB*rs13181*,

XPG*rs17655, NBS1*rs1805794, LIG4*rs1805388, LIG4*rs1805389 продемонстрировало значимые различия между локальными популяциями шорцев в аллельных частотах по ряду исследованных генов (APEX1*rs1130409, ADPRT*rs1136410, XPG*rs17655). Выявлено значительное варьирование комбинаций аллелей, в ряде случаев хорошо согласующееся с распространенностью злокачественных новообразований.

Полученные в ходе мониторинга результаты могут послужить хорошим заделом для дальнейших исследований коренных народов: их генетической

структуры, демографического развития, эпидемиологической и экологической ситуации в местах компактного расселения КМН, а также других аспектов, значимых для понимания их современного состояния и перспектив развития.

Литература

1. Корчагина Р.П. Полиморфизм генов биотрансформации ксенобиотиков (CYP2C9, CYP4F2, CYP2D6, GSTM1, GSTT1) и гена VKORC1 в популяциях коренных этносов Северной Сибири: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.07. Новосибирск, 2012. 16 с.

АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ФЕРМЕНТОВ ДЕТОКСИКАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ (GSTM1, GSTT1) У НАСЕЛЕНИЯ КЕМЕРОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Ф.А. Лузина, А.В. Дорошилова, А.С. Казизкая, О.Н. Гуляева, Т.К. Ядыкина

НИИ комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний, г. Новокузнецк

Накоплено значительное количество данных о роли полиморфизма генов системы биотрансформации ксенобиотиков в защите организма от действия чужеродных соединений, предрасположенности или устойчивости к различным заболеваниям, а также адаптации к изменяющимся условиям окружающей среды [1–3]. Генетическая особенность индивида во многом обусловлена его принадлежностью к определенному географическому региону, этнической и расовой группе [4, 5]. В связи с этим важной задачей является анализ генетического полиморфизма системы биотрансформации ксенобиотиков с учетом этнической специфики региона. Работа посвящена исследованию распределения полиморфных вариантов генов ферментов II фазы детоксикации ксенобиотиков (GSTM1 и GSTT1) у монголоидного (шорцев) и европеоидного населения Кемеровской области в контексте этногенеза.

Шорцы – тюркоязычный коренной малочисленный народ Южной Сибири. Основная территория их проживания – Горная Шория. Численность шорцев на 2010 г. – 10 672 человека.

Материал и методы

Материал собран в экспедиционных условиях в 2010–2016 гг. Выборка шорцев (257 человек) и шорско-русских метисов (32 человека) сформирована из основных ареалов их расселения в Горной Шории. Европеоидное население представлено городскими (408 человек, г. Новокузнецк) и сельскими (56 человек) жителями. Образцы ДНК выделены из венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции. Делеционный полиморфизм генов GSTM1 и GSTT1 исследовали методом ПЦР в реальном времени с использованием наборов реагентов ООО «СибДНК». Оценка генетических расстояний проводилась на этническом уровне по методу Нея [6]. В качестве сравнения использованы данные литературы по телеутам [7], самодийским этносам и русскому населению Северной Сибири [8].

Результаты

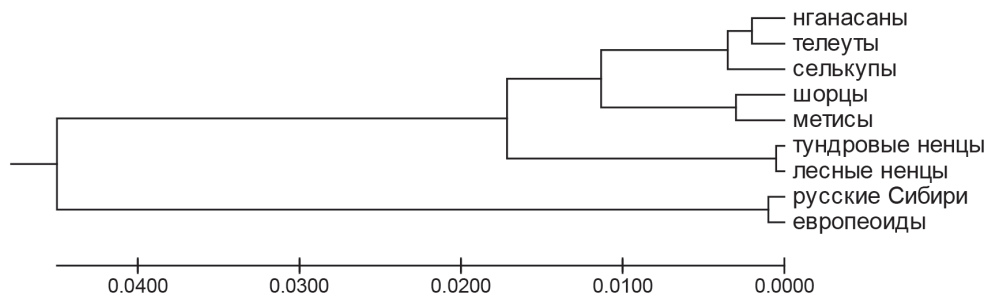
У коренного монголоидного населения области преобладают частоты немутантных вариантов генов GSTM1 и GSTT1. Частоты GSTM1(+) и GSTT1(+) у шорцев соответственно в 1,4 (0,768) и 1,3 раза (0,743) выше по сравнению с европеоидным населением. Частота «нулевых» генотипов и их сочетаний у шорцев статистически значимо ниже, чем у пришлого европеоидного населения: GSTM1 0/0 – 0,232, 0,446 соответственно; GSTT1 0/0 – 0,257, 0,411 соответственно. Частота двойных «функционально ослабленных генотипов» GSTM1 0/0 // GSTT1 0/0 у шорцев составляет 0,05. Наши данные по частоте делеционных генотипов у европеоидного населения Горной Шории согласуются с данными литературы по русскому населению Сибири [3]. Метисы (шорско-европеоидные) по GSTM1 и по GSTT1 занимают промежуточное положение между шорским и европеоидным населением – 0,267 и 0,344 соответственно.

Известно, что «нулевые» генотипы GSTM1 0/0 и GSTT1 0/0 вовлечены в процессы канцерогенеза [9]. Можно предположить, что более низкая смертность от злокачественных новообразований шорского населения может быть связана с полиморфизмом генов глутатион-S-трансфераз GSTM1 и GSTT1 [10]. Сравнение уровня гетерозиготности (H_s) по изученным локусам не выявило статистически значимых различий между шорцами и местным европеоидным населением. Показатель H_s = 0,4994 по GSTM1 и 0,485 по GSTT1 у шорско-русских метисов в большей степени приближен к уровню гетерозиготности аборигенного населения (0,499 и 0,500 соответственно).

Анализ генетических расстояний по локусам GSTM1 и GSTT1 выявил наибольшее генетическое сходство шорцев с шорско-европеоидными метисами (0,006). Сравнение с самодийскими этносами показало, что шорцы близки к селькупам (0,008), дистанцированы от лесных ненцев (0,030) и практически одинаково удалены от нганасан (0,019) и тундровых ненцев (0,021). Это подтверждает тот факт, что в этногенезе шорцев приняли участие

самодийские племена. Самодийский субстрат выделяется достаточно четко в топонимике (гидронимах и оронимах) Горной Шории. Самодийский этниче-

ский компонент прослеживается и у телеутов, которые объединены в общий кластер с нганасанами и селькупками (рисунок).



Дендрограмма генетических взаимоотношений между коренными народами Кузбасса и самодийскими этносами Средней Сибири по генам глутатион-S-трансфераз *GSTM1*, *GSTT1*

Этнические особенности в распределении полиморфных вариантов генов глутатион-S-трансфераз *GSTM1*, *GSTT1* у населения региона имеют немаловажное значение в решении вопросов его этногенеза и адаптации к изменяющимся условиям среды обитания.

Литература

1. Брагина Е.Ю. Сравнительный анализ структуры наследственной компоненты подверженности к бронхиальной астме и туберкулезу по генам ферментов метаболизма ксенобиотиков: дис. ... канд. биол. наук. Томск, 2005. 140 с.
2. Лузина Ф.А., Дорошилова А.В., Захаренков В.В. и др. Распределение полиморфизма генов глутатион-S-трансфераз *M1*, *T1* и их связь с нарушением репродукции у коренного населения Горной Шории // Медицинская генетика. 2015. Т. 14, № 3 (153). С. 34–35.
3. Пузырёв В.П., Фрейдлин М.Б., Рудко А.А. и др. Полиморфизм генов кандидатов подверженности к туберкулезу у славянского населения Сибири: пилотное исследование // Молекулярная биология. 2002. Т. 36, № 5. С. 788–791.
4. Спицын В.А. Экологическая генетика человека. М.: Наука, 2008. 503 с.
5. Степанов В.А. Геномы, популяции, болезни: этническая геномика и персонализированная медицина // Acta Naturae. 2010. Т. 2, № 4. С. 18–34.
6. Nei M. Genetic distance between populations // Amer. Natur. 1972. V. 949, № 106. P. 283–292.
7. Ахматьянова В.Р. Хромосомные aberrации в лимфоцитах крови у представителей коренного и пришлого населения Кемеровской области в связи с полиморфизмом генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Уфа, 2010. 24 с.
8. Корчагина Р.П., Осипова Л.П., Вавилова Н.А. и др. Полиморфизм генов биотрансформации ксенобиотиков *GSTM1*, *GSTT1*, *CYP2D6*, вероятных маркеров риска онкологических заболеваний, в популяциях коренных этносов и русских Северной Сибири // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2011. Т. 15, № 3. С. 448–461.
9. Худoley В.В. Гены и ферменты метаболической активации ксенобиотиков в химическом канцерогенезе // Экологическая генетика. 2003. Т. 1. С. 30–35.
10. Колбаско А.В., Лузина Ф.А., Дорошилова А.В. и др. К вопросу о возможной связи наследственного полиморфизма генов биотрансформации ксенобиотиков *GSTM1* и *GSTM2* с онкопатологией у коренного и пришлого населения г. Новокузнецка Кемеровской области // Медицинская генетика. 2015. № 3 (153). С. 16.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ *TRPV5* И *TRPV6* В ПОПУЛЯЦИЯХ СИБИРИ

Б.А. Малярчук, М.В. Деренко

Институт биологических проблем Севера ДВО РАН, г. Магадан

TRP-каналы являются важными компонентами сенсорных систем клетки. Они задействованы во множестве процессов, связанных с температурной, вкусовой и болевой чувствительностью, зрительным восприятием, апоптозом, а также трансмембранным переносом ионов кальция. Среди кальциевых каналов большой интерес представляют каналы *TRPV5* и *TRPV6*, ответственные за реабсорбцию ионов кальция соответственно в эпителиальных клетках почек и кишечника. Эти каналы кодируются генами *TRPV5* и *TRPV6*, расположенными по соседству в хромосомном районе 7q35. Установлено, что нокаут гена *TRPV5* у мыши приводит к гиперкальциурии, гипервитаминозу D и гиперабсорбции ионов кальция в кишечнике и изменениям в уровне экспрессии гена *TRPV6* [1, 2]. Таким образом, кальциевые каналы за-

действованы в сложной системе транспорта ионов кальция, находящейся под влиянием витамина D, и поэтому представляется вероятным, что популяции человека, населяющие различные климато-географические зоны, могут различаться в отношении полиморфизма генов кальциевых каналов.

Нами исследован полиморфизм экзонов и прилегающих к ним интронных последовательностей генов *TRPV5* и *TRPV6* в выборках коренного населения Сибири. Для этого были использованы результаты полногеномного секвенирования, опубликованные в работах [3, 4], и полученные нами результаты секвенирования экзотов у коренного населения Северо-Восточной Азии (3 коряка, 2 эвена и 1 эвенк).

Анализ гена *TRPV6* позволил выявить 14 полиморфных сайтов, из них только 3 были зарегистри-

рованы более чем у одного индивида (таблица). Полиморфизм по локусам rs4987678, rs4987704 и rs17881456 обнаружен во всех сибирских выборках. По данным проектов «ExAC» (<http://exac.broadinstitute.org>) и «1 000 геномов» (www.ensembl.org)

полиморфизм в этих локусах также характерен для различных региональных групп мира. Следует только отметить, что вариант rs4987704-A намного реже встречается в популяциях Восточной Азии (0,03%), чем в Европе (9,6%).

Частота производных аллелей полиморфных локусов генов TRPV5 и TRPV6 в популяциях Сибири, %

Ген, аллель	Популяции Сибири			
	Северо-Восток (n = 25)	Центр (n = 29)	Юг (n = 34)	Запад (n = 20)
TRPV6, rs4987678-T	2,0	0	8,8	2,5
TRPV6, rs4987704-A	0	5,2	2,9	2,5
TRPV6, rs17881456-A	8,0	10,3	7,4	5,0
TRPV5, rs547597656-T	4,0	0	0	0
TRPV5, rs146651406-G	42,0	3,4	1,5	10,0
TRPV5, rs4252511-T	2,0	1,7	10,3	2,5
TRPV5, rs4252499-T	2,0	1,7	10,3	2,5
TRPV5, rs4252437-A	2,0	1,7	10,3	2,5
TRPV5, rs4252435-A	2,0	1,7	10,3	2,5
TRPV5, rs4252418-C	2,0	1,7	10,3	2,5
TRPV5, rs4252412-A	2,0	1,7	10,3	2,5
TRPV5, rs4236480-T	2,0	1,7	10,3	2,5

Примечание. Северо-Восточная Сибирь: эскимосы, чукчи, коряки; Центральная Сибирь: эвены, эвенки, якуты; Южная Сибирь: тувинцы, шорцы, алтайцы, буряты, монголы; Западная Сибирь: кеты, ханты, селькупы, ненцы, манси, нганасане.

Анализ гена TRPV5 позволил выявить 16 полиморфных позиций. В пяти позициях обнаружены единичные случаи полиморфизма. В двух позициях выявлены новые варианты, один из которых обнаружен у эвенков (7,7%), а другой – у эскимосов, чукчей, эвенов и эвенков (3,7%). В оставшихся девяти позициях полиморфизм зарегистрирован более чем у одного индивида (см. таблицу). Необходимо отметить, что семь (rs4252511, rs4252499, rs4252437, rs4252435, rs4252418, rs4252412, rs4236480) из этих девяти локусов показывают сцепление вариантов полиморфизма. Аллельная комбинация по этим локусам, представленная в таблице, встречается в различных регионах мира с частотой от примерно 5% в Восточной Азии до примерно 60% в Африке. В сибирских популяциях, как показало настоящее исследование, эта комбинация чаще отмечается на юге (10,3%).

У чукчей и коряков с частотой 4% обнаружен очень редкий вариант rs547597656-T, который ранее был отмечен только в Восточной Азии (частота 0,02% по данным проекта ExAC). Однако наиболее интересен вариант rs146651406-G, выявленный с частотой 42% у коряков, чукчей и эскимосов. Его частота в других регионах Сибири намного ниже: почти в 10 раз ниже в Центральной и Южной Сибири и в 4 раза ниже в Западной Сибири (см. таблицу). Результаты анализа, выполненного с помощью точного теста на межпопуляционную дифференциацию, показывают статистически значимые различия по распределению частот генотипов локуса rs146651406 между популяциями Северо-Восточной Сибири и всеми остальными региональными выборками населения Сибири ($p < 0,001$). Следует отметить, что ранее вариант rs146651406-G был выявлен только у китайцев и вьетнамцев (в среднем с частотой 0,6%) и у мексиканцев (0,8%).

Таким образом, у коренного населения Северо-Восточной Азии наблюдается мировой макси-

мум частоты варианта rs146651406-G гена TRPV5. Причины высокой распространенности данного варианта на Северо-Востоке Азии пока не выяснены, однако можно предположить, что это обусловлено адаптацией к традиционной диете, в которой издревле преобладали мясо и жир ластоногих и китов, богатые полиненасыщенными жирными кислотами и витамином D. Ранее у коренного населения Северо-Востока Азии уже описывались случаи положительного отбора вариантов полиморфизма (например, в генах, кодирующих карнитин-о-пальмитоилтрансферазу 1A [3] и белок LRP5, связанный с рецептором липопротеинов низкой плотности [4]), обусловленного, возможно, особенностями питания и метаболизма липидов и витамина D на Крайнем Севере.

Исследование выполнено при финансовой поддержке программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Поисковые фундаментальные научные исследования в интересах развития Арктической зоны Российской Федерации».

Литература

1. Hoenderop J.G., van Leeuwen J.P., van der Eerden B.C. et al. Renal Ca²⁺ wasting, hyperabsorption, and reduced bone thickness in mice lacking TRPV5 // Journal of Clinical Investigation. 2003. V. 112. P. 1906–1914.
2. Renkema K.Y., Nijenhuis T., Van Der Eerden B.C. et al. Hypervitaminosis D mediates compensatory Ca²⁺ hyperabsorption in TRPV5 knockout mice // Journal of the American Society of Nephrology. 2005. V. 16. P. 3188–3195.
3. Clemente F.J., Cardona A., Inchley C.E. et al. A selective sweep on a deleterious mutation in the CPT1A gene in Arctic populations // American Journal of Human Genetics. 2014. V. 95. P. 584–589.
4. Pagani L., Lawson D.J., Jagoda E. et al. Genomic analyses inform on migration events during the peopling of Eurasia // Nature. 2016. V. 538. P. 238–242.

СВЯЗЬ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИЙ ЧЕЛОВЕКА С ГЕОГРАФИЧЕСКИМИ И КЛИМАТИЧЕСКИМИ ПАРАМЕТРАМИ

А.А. Попович¹, В.А. Степанов^{1,2}, К.В. Вагайцева^{1,2}, А.В. Бочарова^{1,2}

¹ НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

² Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск

В последнее время исследование генома человека с использованием результатов таких крупных международных проектов, как «НарМар», «1 000 геномов» и HGDP, значительно расширило представление об изменчивости генофонда популяций в пространстве и времени в процессе миграции по земному шару. Выявлена зависимость генетической вариабельности от переменных окружающей среды [1, 2]. Однако роль адаптивной эволюции в формировании генетических характеристик популяций человека, проживающих на территории Северной Евразии, изучена слабо. Длительная приспособительная эволюция генофонда популяций Сибири и Дальнего Востока могла привести к формированию устойчивых адаптивных комплексов.

Цель исследования – анализ генетического разнообразия популяций Северной Евразии совместно с мировыми популяциями и выявление связи генетической структуры с географическими и климатическими параметрами.

Материалы и методы

В рамках настоящей работы было изучено 17 популяционных выборок: русские, карелы, вепсы, удмурты, коми, узбеки, киргизы южные, киргизы северные, ханты, кеты, тувинцы, буряты, эвенки, якуты, нивхи, коряки, чукчи. Дополнительно к исследованию были привлечены данные по 20 популяциям из проекта «1 000 геномов» и по 23 популяциям из проекта «HGDP». Полиморфные генетические маркеры, включенные в анализ, показали действие естественного отбора согласно литературным данным и (или) принадлежат генам, связанным с устойчивостью к холоду, а именно вовлечены в такие процессы, как регуляция мышечных сокращений, терморегуляция, регуляция артериального давления, метаболизм липидов и др. [2–5]. Таким образом, было выбрано 25 однонуклеотидных полиморфных генетических маркеров. Анализ корреляции частот аллелей и наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности с климато-географическими параметрами осуществлен с помощью корреляции Спирмена (R) в программе Statistica. Работа выполнена с привлечением научно-исследовательского оборудования ЦКП «Медицинская геномика» при НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

Результаты

Изученные генетические маркеры являются полиморфными в исследованных популяциях и характеризуются существенной вариабельностью показателей гетерозиготности отдельно по каждому локусу (от 0,0 до 0,5). Не обнаружено накопления отклонений от равновесия Харди–Вайнберга ($p < 0,05$) и в популяциях, и отдельно по генетическим маркерам.

Частота аллелей большинства исследованных SNP статистически значимо связана с абсолютной широтой, абсолютной долготой, среднегодовой температурой, температурой наиболее холодного и теплого месяцев, разбросом температур. Накопление числа значимых корреляций с климатическими и географическими параметрами, вероятно, обусловлено принципом отбора генетических маркеров для анализа. На уровне всей системы маркеров выявлена связь средней гетерозиготности по 25 локусам с абсолютной широтой и долготой, среднегодовой температурой, температурой наиболее холодного и теплого месяцев, разбросом температур и средним количеством осадков. Относительно отдельных регионов показано низкое внутривидовое разнообразие на территории Африки, Океании и Америки, в то время как высокое генетическое разнообразие наблюдается в популяциях Северной Евразии (Средняя Азия и Сибирь).

Таким образом, результаты настоящей работы свидетельствуют о связи генетической структуры популяций с переменными окружающей среды (климат и география). Низкий уровень генетического разнообразия характерен для групп, проживающих на территории с жарким экваториальным и субэкваториальным климатом (Африка, Америка и Океания), и постепенно возрастает в популяциях Северной Евразии. Хотя, согласно результатам других исследований по условно-нейтральным маркерам, внутривидовое генетическое разнообразие снижается по мере удаления от территории происхождения современного человека в Восточной Африке в связи с процессами миграции, генетического дрейфа и относительной изоляцией малочисленных популяций [6, 7].

Увеличение генетического разнообразия от Африки к популяциям Северной Евразии было ранее показано нами при исследовании полиморфных генетических маркеров, ассоциированных с иммуннозависимыми фенотипами [8]. Данная закономерность лежит в русле гипотезы канализации / деканализации геном-феномных отношений. Древние африканские популяции были приспособлены к определенным условиям среды обитания, вероятно, действовавшим как канализирующий фактор, отразившийся и на генетической структуре данных популяций. Расселение человека в другие регионы с иными условиями окружающей среды, вероятно, способствовало снижению действия направленного отбора на адаптивные для популяций Африки аллели генов и увеличению частоты альтернативных аллелей и корреляции частот аллелей генетических маркеров с климато-географическими факторами.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 15-04-02442.

Литература

1. Hancock A.M., Witonsky D.B., Gordon A.S. et al. Adaptations to climate in candidate genes for common metabolic disorders // PLoS Genet. 2008. V. 4. № 2. e32.
2. Hancock A.M., Witonsky D.B., Alkorta-Aranburu G. et al. Adaptations to climate-mediated selective pressures in humans // PLoS Genet. 2011. V. 7, № 4. e1001375.
3. Cardona A., Pagani L., Antao T. et al. Genome-wide analysis of cold adaptation in indigenous Siberian populations // PLoS One. 2014. V. 9, № 5. e98076.
4. Lappalainen T., Salmela E., Andersen P.M. et al. Genomic landscape of positive natural selection in Northern European populations // Eur. J. Hum. Genet. 2010. V. 18, № 4. P. 471–478.
5. Rasmussen M., Li Y., Lindgreen S. et al. Ancient human genome sequence of an extinct Palaeo-Eskimo // Nature. 2010. V. 463, № 7282. P. 757–762.
6. Степанов В.А. Геномы, популяции, болезни: этническая геномика и персонализированная медицина // Acta naturae. 2010. Т. 2, № 4. С. 18–34.
7. Rosenberg N.A., Kang J.T. Genetic Diversity and Societally Important Disparities // Genetics. 2015. V. 201, № 1. P. 1–12.
8. Степанов В.А. Эволюция генетического разнообразия и болезни человека // Генетика. 2016. Т. 52, № 7. С. 852–864.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА L-ФИКОЛИНА (*FCN2*) В АРКТИЧЕСКИХ ПОПУЛЯЦИЯХ РОССИИ

М.В. Смольникова, В.Б. Епанешникова, С.Н. Зобова, С.Ю. Терещенко

НИИ медицинских проблем Севера ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск

Младенческая смертность является важной характеристикой общего состояния здоровья и уровня жизни населения страны. Показано, что генетически обусловленные особенности метаболизма и иммунных реакций у детей коренных народов Севера могут способствовать тяжелому течению распространенных инфекционных заболеваний с повышенным риском смертности в младенческом возрасте [1, 2].

Лектин-опосредованная активация комплемента является одним из важных путей первой линии неспецифической защиты от инфекций. В настоящее время известно несколько молекул, вовлеченных в лектиновый путь активации комплемента: фиколины и коллектины (маннозосвязывающий лектин (mannose binding lectin, MBL), печеночный коллектин-1 (collectin liver-1) и почечный коллектин-1 (collectin kidney-1)). Фиколины структурно и функционально гомологичны MBL, обладают способностью фиксироваться к углеводным компонентам бактерий с последующей активацией комплемента. К настоящему времени описаны полиморфизмы в промоторе и экзонах гена фиколина печеночного происхождения (L-фиколина), которые вызывают 20-кратные различия в концентрациях L-фиколина в плазме [3]. Высокие показатели младенческой смертности в коренных популяциях арктических территорий России предположительно могут быть связаны с дефектами иммунной системы, вызванными вариантами гена L-фиколина (*FCN2*).

Цель исследования – изучение частоты аллельных вариантов гена *FCN2* (rs17549193 и rs7851696), которые могут быть связаны с тяжелым течением бактериальных инфекционных заболеваний у детей раннего возраста аборигенных популяций Таймырского Долгано-Ненецкого района Красноярского края.

Материалы и методы

Исследование было одобрено этическим комитетом Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера (№ 9 от 8.09.2014 г.). Подписанное информированное согласие было получено от родителей всех детей-участников. Новорожденные ($n = 586$) разделены на четыре группы для изучения этнической специфичности полимор-

физмов *FCN2*: 1) новорожденные из деревень с преобладающим ненецким населением (ненцы составляют 85% населения, $n = 126$); 2) новорожденные из деревень с преобладающим долгано-нганасанским населением (долганы-нганасаны составляют 91% населения, $n = 90$); 3) новорожденные из поселков со смешанным национальным составом населения ($n = 167$). В качестве контрольной группы были набраны 203 новорожденных из г. Красноярск европейского происхождения по анкетным данным матерей.

Выделение ДНК проведено с использованием набора DAtom DNA Prep (Центр молекулярной генетики, Россия). Генотипирование выполнено с помощью анализа длин рестрикционных фрагментов. Изучены два полиморфизма: rs17549193 (+6359C>T; p.T236M) и rs7851696 (+6424G>T; p.A258S), локализованных в экзоне 8 гена *FCN2*. Соответствующий геномный фрагмент 237 п.о. был амплифицирован с использованием пары олигонуклеотидных праймеров: прямой – 5'-CTGCCTGTAACGATGCTCAC-3' и обратный – 5'-ATCCTTCCCGACTTCCAG-3' (температура отжига 60 °C). Использованы эндонуклеазы рестрикции HpySE526 I (rs17549193) и MroXI (rs7851696).

Соответствие частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга было проверено с применением критерия χ^2 , с использованием онлайн-калькулятора Gen Expert (http://gen-exp.ru/calculator_or.php).

Результаты и обсуждение

Анализ распространенности генотипов изученных полиморфных вариантов гена *FCN2* выявил более низкую частоту гетерозиготного генотипа СТ по rs17549193 у новорожденных арктических популяций Восточной Сибири по сравнению с детьми г. Красноярск (33,3–38,3% против 55,2%; $p < 0,01$). В ненецкой популяции генотип ТТ и аллель Т (1,6 и 0,37 соответственно) полиморфизма rs17549193 были самыми редкими по сравнению с другими популяциями: у долган-нганасанами они регистрировались с частотой 6,7 и 0,50 соответственно ($p = 0,09$), у европеоидов – с частотой 9,4 и 0,74 соответственно ($p < 0,001$). Не было выявлено статистически значимых различий между изучаемыми популяциями в

отношении распространенности генотипов и аллелей для rs7851696. Однако следует отметить, что частота регистрации аллеля T в популяции долган-нганасанов (0,08) почти вдвое меньше по сравнению с ненцами (0,15) и европеоидами из г. Красноярска (0,15). Вероятно, такая низкая распространенность «полезного» генотипа, характерного для нганасанов, может быть подтверждена в будущем в больших популяционных выборках.

Ранее было установлено, что минорный аллель T rs17549193 ассоциирован с заметным снижением связывающей способности L-фиколина с углеводными компонентами бактериальных клеточных стенок, тогда как минорный аллель T rs7851696 связан с повышенной связывающей способностью [4]. Некоторые исследования показали, что высокий уровень L-фиколина был связан с вариантным аллелем rs17549193 [5, 6]. Это может свидетельствовать о том, что высокие уровни L-фиколина в плазме обусловлены его пониженной способностью связывать патоген, что приводит к уменьшению его накопления в очаге воспаления.

Таким образом, результаты, полученные в настоящем исследовании, позволяют предположить, что арктические популяции Восточной Сибири характеризуются специфичностью в представленности аллельных вариантов, определяющих активность L-фиколина. Мы полагаем, что популяции Арктики характеризуются генетической предрасположенностью к более высокому уровню функциональной активности L-фиколина по сравнению с европеоидной популяцией. Показано, что население ненцев имеет несколько важных особенностей по сравнению с долганами-нганасанами: более низкая распространенность аллеля T по rs17549193 и более высокая

распространенность аллеля T по rs7851696. Результаты текущего и нашего предыдущего исследований [2] показывают, что популяция ненцев имеет самый высокий уровень неспецифической противомикробной защиты по сравнению с другими популяциями Восточной Сибири. Дополнительный анализ заболеваемости инфекционными болезнями в изученных популяциях позволяет выявить фенотипические характеристики населения ненцев, связанные с повышенной функциональной способностью L-фиколина как одного из важных агентов инфекции первого ряда защитного агента.

Литература

1. Chapman S.J., Hill A.V. Human genetic susceptibility to infectious disease // *Nat. Rev. Genet.* 2012. V. 13. P. 175–188.
2. Tereshchenko S.Y., Smolnikova M.V. A Pilot Study of Inherited Carnitine Palmitoyltransferase Deficiency as an Ethnogenetic Risk Factor of Infant Mortality in Indigenous Populations of the Far North // *Human Physiology.* 2016. V. 42. P. 145–149.
3. Kilpatrick D.C., Chalmers J.D. Human L-Ficolin (Ficolin-2) and Its Clinical Significance // *Journal of Biomedicine and Biotechnology.* 2012. P. 138797.
4. Hummelshoj T., Munthe-Fog L., Madsen H.O. et al. Polymorphisms in the FCN2 gene determine serum variation and function of Ficolin-2 // *Hum. Mol. Genet.* 2005. V. 14. P. 1651–1658.
5. Cedzynski M., Nuytinck L., Atkinson A.P. et al. Extremes of L-ficolin concentration in children with recurrent infections are associated with single nucleotide polymorphisms in the FCN2 gene // *Clin. Exp. Immunol.* 2007. V. 150. P. 99–104.
6. Mishra A., Antony J.S., Sundaravadevel P. et al. Association of Ficolin-2 Serum Levels and FCN2 Genetic Variants with Indian Visceral Leishmaniasis // *PLoS One.* 2015. V. 10 (5). e0125940.

ФАКТОРЫ ПОПУЛЯЦИОННОЙ ДИНАМИКИ В ТЕРРИТОРИАЛЬНЫХ ГРУППАХ СИБИРСКИХ ТАТАР

М.В. Ульянова¹, М.Б. Лавряшина¹, З.А. Тычинских²

¹ Кемеровский государственный университет, г. Кемерово

² Тобольская комплексная научная станция УрО РАН, г. Тобольск

Изучение динамики генетически значимых демографических параметров позволяет адекватно оценивать особенности формирования популяционных генофондов и, что особенно важно, формировать прогноз относительно сохранения биологического своеобразия популяционно-генетической структуры локальных популяций.

Сибирские татары – коренное население Западной Сибири – разнообразны по составу и расселены на обширной территории, включающей Тюменскую, Томскую, Омскую, Новосибирскую и Кемеровскую области. По классификации Ф.Т. Валева и Н.А. Томилова [1] выделяют три крупные этнотерриториальные группы сибирских татар: тоболо-иртышскую, томскую и барабинскую, объединяющие ряд подгрупп.

В настоящем сообщении обсуждаются данные популяционно-генетического исследования трех популяций сибирских татар: заболотных (ясколбинская подгруппа, тоболо-иртышская группа), ялуторовских

(тюменско-туринская подгруппа, тоболо-иртышская группа), барабинско-турашских (барабинская группа). Две последние группы расселены на западе и востоке этнического ареала, заболотные татары представляют собой территориально изолированную популяцию.

Материалы

Материалом для исследования послужили данные книг похозяйственного учета сельского населения за три временных периода (1950-е, 1980-е, 2010-е гг.). В Тюменской области обследованы Ачирское и Лайтамакское сельские поселения (СП) Тобольского района, а также Асланинское СП Ялуторовского района. В Новосибирской области: Межозерный и Новоспасский сельские советы (с/с) Барабинского района; Озеро-Карачинский, Новоображенский, Тебисский и Красносельский с/с Чановского района; Гжатский и Камский с/с Куйбышевского района

(всего 18 222 человека). Собраны и проанализированы данные анкет, заполненных на женщин завершённого репродуктивного периода (суммарно – 308 анкет).

Результаты

Исследование показало, что во всех изученных популяциях в той или иной степени практикуются планирование семьи и регулирование рождаемости. Реальный репродуктивный период составил около 1/5 физиологического репродуктивного периода с тенденцией к сокращению за поколение, особенно выраженной в популяции заболотных татар. Снижение рождаемости, зарегистрированное во всех территориальных группах, отразилось на половозрастной структуре популяций (уменьшение доли дорепродуктивного класса и, как следствие, смена типа воспроизводства на суженный). Регулирование рождаемости оказывает влияние и на изменение роли естественного отбора в исследованных популяциях (таблица), что находит отражение в структуре индекса Кроу, отражающего тотальную величину отбора. В структуре индекса возрастает вклад компоненты, связанной с дифференциальной плодовитостью (I_f), по сравнению с компонентой, связанной с дифференциальной смертностью (I_m). Однако в исследованных популяциях сибирских татар соотносительная роль отбора различается. Так, доля I_f в величине I_{tot} в локальных популяциях заболотных и барабинско-турашских татар примерно одинакова (85,3 и 86,73 соответственно), а в ялуторовской популяции составила 94,97%, что может быть связано с более комфортными условиями среды проживания.

Структура индекса Кроу в популяциях сибирских татар

Показатель	Популяция		
	ялуторовские	заболотные	барабинско-турашские
I_m	0,008	0,051	0,037
I_f	0,189	0,409	0,327
I_{tot}	0,199	0,481	0,377
I_m/I_{tot} , %	3,98	10,61	9,92
I_f/I_{tot} , %	94,97	85,03	86,73

Примечание. I_m – компонента отбора, связанная с дифференциальной смертностью; I_f – компонента отбора, связанная с дифференциальной плодовитостью; I_{tot} – тотальная величина отбора.

Эффекты естественного отбора в популяции заболотных татар проявляются более высоким (0,50), по сравнению с ялуторовскими (0,28) и барабинско-турашскими (0,32), уровнем пренатальных потерь (мертворождения, спонтанные аборты). Средний уровень дорепродуктивных потерь в исследованных популяциях невысок, однако у заболотных татар данный показатель (0,15) также

выше, чем у ялуторовских и барабинско-турашских (0,02 и 0,03 соответственно). Ослабление действия отбора через детскую смертность может приводить к увеличению генетического груза за счет сохранения в генофонде популяции неадаптивных генотипов.

Естественный отбор сам по себе может оказывать влияние на уровень генетического разнообразия в популяциях, но в конечном итоге способствует повышению приспособленности популяции. Эффекты дрейфа генов могут возникать в популяциях с небольшой эффективной численностью, а нивелировать эти неблагоприятные последствия может миграция. В исследованных популяциях за три поколения регистрируется снижение эффективно-репродуктивного объема, что в совокупности со снижением рождаемости может оказать значимое влияние на уровень генетического разнообразия локальных сибирско-татарских популяций в последующих поколениях. Популяция может «противодействовать» снижению разнообразия интенсификацией миграций, что было показано для ялуторовской группы на основе расчета индекса миграций по изонимии ($v = 0,032$; $v = 0,047$; $v = 0,053$ соответственно для трех поколений). Миграционные процессы, вероятно, обусловили и снижение во времени величины случайной компоненты инбридинга (F_{ST}) с 0,00095 до 0,00043 за три поколения. В данной популяции, несмотря на смешанный национальный состав, очень низка частота межэтнических браков во всех поколениях (не превышает 3%). Отметим, что на данном этапе в исследовании все татарские браки учитывались как однонациональные, в том числе браки между сибирскими татарами и татарами-переселенцами из Волго-Уральского региона. Аналогичная картина наблюдается в сельских популяциях барабинско-турашских татар Новосибирской области, где регистрируется более высокая доля межнациональных браков, однако и тут их частота не превышала 5%. Что касается изолированной группы заболотных татар, здесь уровень миграционной активности стабилен ($v = 0,032$; $v = 0,034$; $v = 0,031$ соответственно для трех поколений), одновременно фиксируется рост случайной компоненты инбридинга по изонимии практически в 2 раза (с 0,0006 до 0,0011). Учитывая территориальную изоляцию этой группы сибирских татар, такая ситуация может привести к снижению генетического разнообразия в последующих поколениях.

Таким образом, проведенное исследование продемонстрировало различие соотносительного вклада отбора, дрейфа генов и миграции в динамику популяционных генофондов исследованных групп сибирских татар.

Литература

1. Валеев Ф.Т., Томилов Н.А. Татары Западной Сибири: история и культура. Новосибирск: Наука, 1996. 224 с.

ГЕНОФОНД КОРЕННЫХ НАРОДОВ ДАГЕСТАНА АНДИЙСКОЙ ГРУППЫ ПО АУТОСОМНЫМ STR-МАРКЕРАМ

В.Н. Харьков^{1,2}, Н.А. Колесников¹, М.О. Раджабов³, И.Ю. Хитринская^{1,2}, В.А. Степанов^{1,2}

¹ НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

² Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск

³ Институт физики им. Х.И. Амирханова ДНЦ РАН, г. Махачкала

Республика Дагестан – уникальный район не только России, но и всего мира с точки зрения разнообразия естественно-географических условий, этнокультурного многообразия проживающего здесь населения и историко-генетических проблем. Дагестан является самой многонациональной республикой России. Здесь в течение тысячелетий формировались и развивались десятки народов. В настоящее время в республике насчитывается около 26 коренных народностей, говорящих на различных языках кавказской, алтайской и индоевропейской языковых семей [1]. При этом языки народов Дагестана высоко дифференцированы, что является свидетельством постоянной лингвистической эволюции в регионе [2]. Кроме дифференцировки языков непрерывно шел процесс изоляции, действие которой усиливалось большим числом эндогамных браков внутри поселений.

В последние годы вышли в свет работы по изучению структуры генофондов крупных коренных этносов Дагестана, таких как аварцы, даргинцы, кумыки, лезгины [3–6]. В то же время остаются практически неизученными малочисленные коренные народы Дагестана, населяющие западные и юго-западные районы республики. Их изучение представляет несомненный интерес с точки зрения как описания новых этнических групп, так и более полной характеристики всего северокавказского генофонда. В частности, интерес представляет андийская группа народов (андицы, ахвахцы, багулалы, ботлихцы, годоберинцы, каратинцы, тиндинцы, чамалинцы), представители которой расселены в юго-западной горной части Дагестана.

Цель работы – характеристика структуры генофондов коренных народов Дагестана, принадлежащих к андийской группе нахско-дагестанской языковой семьи по аутосомным STR-маркерам.

Материалы и методы

Материал для исследования составили образцы ДНК неродственных между собой мужчин из различных локальных популяций ($N = 466$). Забор первичного биологического материала (венозной крови) у доноров производили с соблюдением процедуры письменного информированного согласия на проведение исследования. Сбор образцов осуществлялся из локтевой вены в пластиковые вакуумные пробирки с ЭДТА. На каждого донора составлялась анкета с краткой родословной, указанием национальности и мест рождения предков. Материал собран в ходе экспедиций, организованных к.б.н. М.О. Раджабовым и НИИ медицинской генетики и проводившихся во взаимодействии с представителями региональных органов здравоохранения в 2011–2015 гг.

Для изучения состава и структуры генофонда исследуемых народов в рамках данной рабо-

ты использовались 20 аутосомных STR-маркеров: D16S539, D18S51, D2S1338, CSF1PO, PentaD, D8S1179, D12S391, D19S433, FGA, D22S1045, D3S1358, D1S1656, D2S441, D13S317, PentaE, TH01, vWA, D7S820, D7S818, TPOX. Использовался набор PowerPlex® Fusion System (Promega). Маркеры генотипировали с помощью капиллярного электрофореза на генетическом анализаторе ABI Prism 3730 в присутствии стандартов длины молекул ДНК Internal Lane Standard 500 (Promega) и программного обеспечения GeneMapper. Оценку генетического разнообразия в исследуемых популяциях производили по формуле Нея [7]. Генетическую дифференциацию оценивали с помощью анализа молекулярной дисперсии (AMOVA) [8]. Экспериментальные исследования проведены на базе Центра коллективного пользования научно-исследовательским оборудованием и экспериментальным биологическим материалом «Медицинская геномика» (НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ).

Результаты

Проведенный анализ распределения частот аллелей выбранных STR-маркеров выявил неоднородность изученных популяций Дагестана по степени генетического разнообразия их мужского генофонда. Наиболее разнообразным в андийской группе оказался генофонд чамалинцев ($H = 0,801$). Наименьшим генетическим разнообразием обладают ахвахцы ($H = 0,723$) и багулалы ($H = 0,745$). Данные о частотах аллелей STR-маркеров в исследованных популяционных выборках были использованы для выяснения филогенетических взаимоотношений между изучаемыми этносами. Было установлено, что популяции не образуют между собой тесных групп, некоторая удаленность регистрируется между андийцами, тиндинцами, годоберинцами и ботлихцами, с одной стороны, и аратинцами, чамалинцами и багулалами – с другой; наиболее удалены от всех других народностей чамалинцы.

Между большинством пар сравниваемых выборок не установлено статистически значимых различий по частотам STR. При этом практически для всех локусов в большинстве популяций наблюдается соответствие наблюдаемого распределения генотипов равновесию Харди–Вайнберга, оцененное с использованием точного теста по Гуо и Томпсону [9], реализованного в пакетах ARLEQUIN 3.5.1.2 [10]. В целом межпопуляционная дифференциация в андийской группе оказалась относительно низкой, F_{st} по AMOVA составляет 1,76%.

Таким образом, несмотря на высокий уровень инбридинга и изоляции различных этносов за счет культурных и географических барьеров, результаты дисперсионного анализа свидетельствуют о значи-

тельной генетической близости среди этносов андийской группы по аутосомным STR маркерам.

Исследование выполнено за счет гранта № 16-34-60222 мол_а_дк.

Литература

1. Народы Дагестана / отв. ред. С.А. Арутюнов, А.И. Османов, Г.А. Сергеева. М.: Наука, 2002. 588 с.
2. Nichols J. The Nakh-Daghestanian consonant correspondences // Current trends in Caucasian, East European, and Inner Asian linguistics: papers in honor of Howard I. Aronson. D. Holisky, K. Tuite (eds.). Philadelphia: John Benjamins, 2003. P. 207–251.
3. Bulayeva K.B., Jorde L., Watkins S. et al. Ethnogenomic diversity of Caucasus, Daghestan // Am. J. Hum. Biol. 2006. V. 18 (5). P. 610–620.
4. Кутуев И.А. Генетическая структура и молекулярная филогенетика народов Кавказа: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Уфа, 2010. 46 с.
5. Юнусбаев Б.Б. Популяционно-генетическое исследование народов Дагестана по данным о полиморфизме Y-хромосомы и Alu-инсерций: автореф. дис. ... канд. биол. наук. 2006. 24 с.
6. Balanovsky O., Rootsi S., Pshenichnov A. et al. Parallel Evolution of Genes and Languages in the Caucasus Region // Mol. Biol. Evol. 2011. V. 28. P. 2905–2920.
7. Nei M. Molecular evolutionary genetics. New York: Columbia Univ. Press, 1987. 512 p.
8. Excoffier L., Smouse P., Quattro J. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data // Genetics. 1992. V. 131. P. 479–491.
9. Guo S. Biometrics // S. Guo E. Thompson. 1992. V. 48. P. 361–372.
10. Excoffier L., Laval G., Schneider S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis // Evolutionary Bioinformatics Online. 2005. V. 1. P. 47–50.

АНАЛИЗ РОДОПЛЕМЕННОЙ СТРУКТУРЫ ХАКАСОВ ПО МАРКЕРАМ Y-ХРОМОСОМЫ

**В.Н. Харьков^{1,2}, Л.М. Новикова², О.В. Штыгашева³,
В.Г. Волков², И.Ю. Хитринская¹, В.А. Степанов^{1,2}**

¹ НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

² Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск

³ Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова, г. Абакан

Особенностью этнического состава большинства южносибирских народов является наличие родов (сеоков), где родство ведется по мужской линии. Такая родовая структура характерна для шорцев, хакасов, северных и южных алтайцев, телеутов. Ранее каждый член рода мог назвать до семи поколений своих предков по мужской линии, но в настоящее время эта традиция уходит в прошлое [1]. Современные методы, применяемые в молекулярно-генетических исследованиях, позволяют проверить, является ли сеок кровнородственным объединением, имеющим одного родоначальника по мужской линии, или осознание такой общности является лишь условностью, и сеок является общностью людей, проживающих на одной территории, но не связанных генетическим родством по отцовским генеалогическим линиям.

Хакасы – тюркоязычный народ, живущий в настоящее время в Южной Сибири на левобережье Хакасско-Минусинской котловины, на территории республик Хакасия и Тыва, а также на юге Красноярского края. Хакасы подразделяются на четыре этнографические группы: сагайцы, качинцы, кызыльцы, койбалы, и более сотни сеоков [1]. Установление родовой принадлежности у хакасов в большинстве случаев можно сделать по фамилиям, так как практически все хакасские фамилии приписаны этнографами к конкретному сеоку [2]. Даже если современные жители не относят себя к тому или иному роду, не помнят принадлежности своих предков к конкретному сеоку, более того, в настоящее время осознают себя сагайцами, хотя многие поколения их праотцов считали себя бельтирами или бирюсинцами, фамилия человека служит указателем на его происхождение.

Цель исследования – с помощью анализа генетической структуры по маркерам Y-хромосомы выяснить, являются ли хакасские сеоки кровнородственными объединениями, имеющими одного родоначальника по мужской линии, или осознание такой общности является лишь условностью, и сеок – это общность людей, проживающих на одной территории, но не связанных генетическим родством по отцовским генеалогическим линиям.

Материалы и методы

В работе исследована структура генофонда хакасов с помощью 85 диаллельных и 36 STR маркеров Y-хромосомы. В исследование включены только образцы ДНК доноров-мужчин, по результатам анкетирования отрицавшим факт метисации по отцовской линии с представителями других этносов минимум в трех поколениях. В ходе сбора образцов соблюдалась процедура информированного согласия доноров. Индивида относили к данной национальной группе на основании его собственной национальности, национальности родителей, места рождения и принадлежности к определенному сеоку.

Выборка мужчин хакасов ($N = 292$) представляет коренное население Республики Хакасия. Обследованы три популяционных 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 (сёла Малый Спирин и Топанов, $N = 51$). Материал получен в ходе совместной научно-практической медицинской экспедиции в 2007–2008 и 2016 г. Среди мужчин, включенных в настоящее исследование,

оказались представлены следующие сеоки (в алфавитном порядке): кичин, пилтыр, пурт, сагай, сайын, сарыг, сойыт, сор, сохы, табан, таяс, таяш, ти-лек, том, том-сагай, туран, халар, хан, харга, хасха, хахпына, хобый, хызыл хая, хый, хыргыс, чити пуур, чыстар, ызыр.

С помощью SNP-маркеров определяли принадлежность образцов к той или иной гаплогруппе. На основании данных о составе гаплотипов внутри гаплогрупп выявляли их внутреннее разнообразие и детальные филогенетические взаимоотношения. Генотипирование SNP-маркеров проводили с помощью ПЦР и последующего анализа фрагментов ДНК с помощью ПДРФ-анализа. STR-маркеры генотипировали с помощью капиллярного электрофореза на генетическом анализаторе ABI Prism 3730 и программного обеспечения GeneMapper. Экспериментальные исследования проведены на базе Центра коллективного пользования научно-исследовательским оборудованием и экспериментальным биологическим материалом «Медицинская геномика» (НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ).

Результаты

По результатам генотипирования удалось выявить в большинстве сеоков основную гаплогруппу, представителей которой среди исследованной выборки образцов этого рода абсолютное большинство. Сравнительный анализ гаплотипов убедительно показал, что представители одного сеока в большинстве случаев не только принадлежат к одной гаплогруппе, но и являются родственниками по мужской линии и чаще всего восходят к одному родоначальнику, жившему в относительно недалеком прошлом. В подавляющем большинстве случаев у представителей одного сеока обнаруживается и общность YSTR-гаплотипов.

Для тех сеоков, количество представителей-мужчин из которых оказалось не менее пяти, провели оценку дифференциации с помощью

AMOVA [3], выявившую просто огромную долю различий между сравниваемыми единицами (сеоками): $F_{st} = 51\%$. Для внутриэтнического уровня это просто гигантские различия в рамках выбранной маркерной системы. Это означает, что генофонд хакасского этноса (точнее, часть, маркируемая гаплогруппами Y-хромосомы) структурирована, прежде всего, по родовому принципу. Именно этот уровень организации генофонда этноса как единой системы является наиболее точно характеризующим его популяционную структуру.

Результаты генетического анализа доказывают, что хакасские сеоки являются, прежде всего, объединением родственников по отцовской линии. Конечно, не для всех сеоков приписанные к ним образцы принадлежали к одной гаплогруппе и одному кластеру гаплотипов, но это явилось скорее исключением из общего правила. Для подавляющего большинства образцов показана тесная генетическая близость представителей одного сеока.

Полученные результаты позволяют совершенно по-новому взглянуть на историю формирования хакасов, с одной стороны, на самом современном уровне генотипирования Y-хромосомных маркеров, с другой стороны, полностью учитывая родовую структуру народа, анализируя межэтнические взаимосвязи и родовые различия.

Исследование выполнено за счет гранта РФФИ (РГНФ) № 16-31-01104/16.

Литература

1. Тюркские народы Сибири / отв. ред. Д.А. Функ, Н.А.Томиллов; Ин-т этнологии и антропологии им. Н.Н. Миклухо-Маклая РАН; Омский филиал Института археологии и этнографии СО РАН. М.: Наука, 2006. 678 с.
2. Бутанаев В.Я. Происхождение хакасов по данным этнонимии // Проблемы археологии и этнографии. Л., 1983. Вып. 2. С. 68–73.
3. Excoffier L., Laval G., Schneider S. Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis // Evolutionary Bioinformatics Online. 2005. V. 1. P. 47–50.

Раздел 3

ГЕНЕТИКА МНОГОФАКТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ *IL1 β* (+3953)C/T И *TNFA* (–308)G/A У ХАКАСОВ И ЕВРОПЕОИДОВ ПРИ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ

Е.С. Агеева, О.В. Штыгашева

Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова, г. Абакан

Попадая в слизистую оболочку желудка, *Helicobacter pylori* (*HP*) индуцирует синтез провоспалительных цитокинов, в частности *IL-1 β* и *TNF α* . Оба эти цитокина обладают способностью вызывать воспаление и оказывать гипоацидный эффект, играющий ключевую роль в патогенезе язвенной болезни двенадцатиперстной кишки (ЯБ ДПК) [1]. Интенсивность воспалительной реакции может модулироваться индивидуальными особенностями человека – полиморфизмом генов.

Цель исследования – охарактеризовать распределение частот генотипов и аллелей полиморфных вариантов генов *IL1 β* (+3953)C/T и *TNF α* (–308)G/A при ЯБ ДПК у хакасов и европеоидов.

Материалы и методы

В исследование были включены 100 пациентов с ЯБ ДПК, из них европеоидов было 52 человека (21 женщина и 31 мужчина, средний возраст $42,6 \pm 9,3$ лет и $39,9 \pm 10,1$ лет соответственно), 48 хакасов (18 женщин и 30 мужчин, средний возраст – $40,4 \pm 12,7$ лет и $44,7 \pm 9,6$ лет соответственно). Формирование выборки больных ЯБ ДПК проводили на основании клинических, эндоскопических и морфологических данных. В группу контроля включены 120 практически здоровых пациентов (60 европеоидов и 60 хакасов, сопоставимых по полу и возрасту с группой пациентов с ЯБ ДПК). Критериями для включения являлось отсутствие острых респираторных заболеваний и *HP* на момент исследования.

Генотипирование аллельных вариантов генов в позициях *IL1 β* (+3953)C/T и *TNF α* (–308)G/A осу-

ществляли рестрикционным анализом. Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди–Вайнберга с помощью критерия χ^2 . Статистически значимые различия по распределению частот генотипов между группами выявляли с использованием критерия χ^2 с поправкой Мантел–Ханзела. Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$. О риске развития язвенной болезни судили по отношению шансов (odds ratio, OR) с 95%-ным доверительным интервалом (CI).

Результаты и обсуждение

Выявлено, что у здоровых доноров европеоидов наиболее часто регистрировался гомозиготный генотип (+3953)C/C гена *IL1 β* (46,7%, табл. 1). В результате проведенного исследования было показано, что у европеоидов с ЯБ ДПК доля лиц с генотипом (+3953)C/C гена *IL1 β* была статистически значимо выше, чем в контроле ($\chi^2 = 10,8$; $p = 0,0009$), в то время как частота гетерозиготного генотипа (+3953)C/T была ниже, чем в контрольной группе ($\chi^2 = 5,07$; $p = 0,0243$) (см. табл. 1). С учетом значения критерия отношения шансов можно говорить о положительной ассоциации между генотипом (+3953)C/C гена *IL1 β* и риском развития ЯБ ДПК (OR = 2,63; 95% CI: 1,41–4,91, $p = 0,0009$); генотипом, связанным с низким риском развития данной патологии, являлся (+3953)C/T (OR = 0,48; 95% CI: 0,24–0,96; $p = 0,024$). Частота встречаемости гомозиготного генотипа (–308)A/A гена *TNF α* у пациентов с ЯБ ДПК (европеоидов) была статистически значимо выше, чем в контрольной группе.

Таблица 1

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфных вариантов генов *IL1 β* (+3953)C/T и *TNF α* (–308)G/A у европеоидов, больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки

<i>IL1β</i> (+3953)C/T	Здоровые доноры, % (n)	ЯБ ДПК, % (n)	<i>TNFα</i> (–308)G/A	Здоровые доноры, % (n)	ЯБ ДПК, % (n)
<i>Генотипы</i>					
CC	46,7 (28)	69,2 (36) ¹	GG	55,0 (33)	44,3 (23)
CT	33,3 (20)	19,2 (10) ¹	GA	33,3 (20)	28,8 (15)
TT	20,0 (12)	11,6 (6)	AA	11,7 (7)	26,9 (14) ¹
<i>Аллели</i>					
C	63,4	80,0	G	71,6	58,7
T	36,6	20,0	A	28,4	41,3
PXB (χ^2)	2,39 ²	2,39 ²	PXB (χ^2)	1,92	4,25 ²

Примечание. n – количество обследованных пациентов и лиц контрольной группы с соответствующими генотипами; ¹ достигнутый уровень статистической значимости при сравнении выборки больных с выборкой здоровых доноров – $p > 0,05$; ² достигнутый уровень статистической значимости при сравнении наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому при равновесии Харди–Вайнберга – $p > 0,05$.

Учитывая значение критерия отношения шансов ($OR = 2,71$; 95% CI : 1,21–6,14; $p = 0,007$), можно предположить о положительной ассоциации генотипа (-308)A/A гена *TNF α* с риском развития ЯБ ДПК у европеоидов.

Частота встречаемости аллеля С полиморфизма (+3953) C/T гена *IL1 β* была статистически значимо выше у европеоидов с ЯБ ДПК по сравнению с группой здоровых доноров ($\chi^2 = 7,1$; $p = 0,007$). С учетом значения критерия отношения шансов можно сделать заключение о положительной ассоциации между аллелем (+3953) C гена *IL1 β* и риском

развития ЯБ ДПК у европеоидов ($OR = 2,71$; 95% CI : 1,21–6,14; $p = 0,007$).

У хакасов встречаемость гомозиготного генотипа (+3953)C/C гена *IL1 β* была наибольшей относительно других вариантов (73,3%, табл. 2). У хакасов в группе больных ЯБ ДПК частота встречаемости генотипа (-308)G/A гена *TNF α* была выше, чем в контрольной группе ($\chi^2 = 4,48$, $p = 0,034$). Риск развития ЯБ ДПК у хакасов может быть ассоциирован с генотипом (-308)G/A гена *TNF α* ($OR = 1,9$; 95% CI : 1,0–3,68; $p = 0,034$).

Таблица 2

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфных вариантов генов *IL1 β* (+3953)C/T и *TNF α* (-308)G/A у хакасов, больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки

<i>IL1β</i> (+3953) C/T	Здоровые доноры, % (n)	ЯБ ДПК, % (n)	<i>TNFα</i> (-308)G/A	Здоровые доноры, % (n)	ЯБ ДПК, % (n)
Генотипы					
CC	73,3 (44)	83,3 (40)	GG	40,0 (24)	31,3 (15)
CT	23,3 (14)	16,7 (8)	GA	25,0 (15)	39,6 (19) ¹
TT	3,4 (2)	0	AA	35,0 (21)	29,1 (14)
Аллели					
C	84,9	92,0	G	52,5	51,1
T	15,1	8,0	A	47,5	48,9
PXB (χ^2)	0,22 ²	0,24 ²	PXB (χ^2)	7,45 ²	2,07

Примечание. Обозначения – см. табл. 1.

Заключение

Полученные данные показали, что как распределение генотипов, так и частота регистрации аллелей по полиморфному варианту (+3953)C/T гена *IL1 β* и полиморфному варианту (-308)G/A гена *TNF α* различаются между европеоидами и хакасами. Кроме того, на основании анализа критерия отношения шансов было выявлено, что генотипы оказывают разное влияние на риск развития заболевания. У европеоидов риск ЯБ ДПК ассоциирован с генотипом (+3953)C/C и аллелем (+3953) C гена *IL1 β* , а также

с генотипом (-308)A/A гена *TNF α* ; протективными свойствами, снижающими риск развития ЯБ ДПК, обладал генотип (+3953)C/T гена *IL1 β* . У хакасов риск развития ЯБ ДПК был ассоциирован с гетерозиготным генотипом (-308)G/A гена *TNF α* .

Литература

1. Yamaoka Y., Miftahussurur M. *Helicobacter pylori* virulence genes and host genetic polymorphisms as risk factors for peptic ulcer disease // Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol. 2015. V. 9 (12). P. 1535–1547.

РОЛЬ АНТИГЕНОВ СИСТЕМЫ HLA КЛАССА I В РАЗВИТИИ ПСОРИАТИЧЕСКОГО АРТРИТА

М.Ю. Алиахунова, С.К. Нуритдинова, Р.А. Хакимова, Д.Н. Исламова, Т.А. Хан

Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр терапии и медицинской реабилитации, г. Ташкент, Узбекистан

Цель исследования – изучение ассоциативной связи антигенов класса I (локусов A и B) системы HLA с псориатическим артритом (ПсА), тяжестью его течения, а также с вариантами суставного синдрома.

Материалы и методы

В исследование включены 59 больных ПсА (26 женщин и 33 мужчины), средний возраст которых составил $41,5 \pm 1,3$ лет, длительность заболевания – 2 года. Олигоартритический вариант наблюдался у 17 больных, полиартритический – у 18, дистальный – у 16, спондилоартритический – у 8 больных.

Сформированы две группы больных в зависимости от возраста возникновения псориаза: до 40 лет ($n = 36$) и после 40 лет ($n = 23$).

Результаты

У больных была выявлена более высокая частота антигенов HLA-B13 (23,2%), B16(38) (23,2%) и B27 (20,2%) по сравнению с контрольной группой (10,0, 4,7 и 7,3% соответственно); наблюдалась также тенденция к снижению частоты антигена B7 у больных ПсА по сравнению с контролем (12,1 и 21,3% соответственно; $p = 0,09$).

Отдельные клинические варианты ПсА были связаны с различными HLA-антигенами. Полиартритический вариант суставного синдрома был положительно ассоциирован с HLA-B16(38) и B27, при этом частота их выявления составила 36,0 и 20,5% соответственно. Антигены В13 и В16(38) выявлялись с частотой 27,3 и 18,1% соответственно и были положительно ассоциированы с дистальным вариантом ПсА. Также выявлена положительная ассоциация спондилоартритического варианта с HLA-B27, при этом данный антиген имел место у половины больных с признаками спондилоартрита. Олигоартритический вариант характеризовался низкой частотой выявления антигена В7 (3,7%) и, соответственно, отрицательной ассоциативной связью с данным антигеном.

Между группами больных неэрозивным и эрозивным ПсА не было обнаружено различий по частоте встречаемости антигенов В13 и В27. В то же время в группе больных неэрозивным ПсА частота обнаружения антигенов В13 и В27 была выше, чем в группе контроля ($OR = 3,20$; 95% CI : 1,37–7,50; $p < 0,005$ и $OR = 4,12$; 95% CI : 1,64–10,44; $p < 0,001$ соответственно).

Более высокая частота регистрации антигена В16(38) была характерна для всех рентгенологических стадий ПсА: 1-я подгруппа (I–IIA стадия) – 16,4%; 2-я подгруппа (IIB стадия) – 25%; 3-я подгруппа (III–IV стадия) – 40,9%, по сравнению с 8,7% в группе контроля, при этом сила ассоциативной связи увеличивалась с возрастанием степени выражен-

ности деструкции в суставах. Так, в группе больных с III–IV стадией ПсА по сравнению с группой больных с I–IIA стадией ассоциативная связь антигена В16(38) с эрозивным процессом была статистически значимо выше ($OR = 14,14$; 95% CI : 3,98–51,75 и $OR = 4,01$; 95% CI : 1,32–12,40; $p = 0,02$ соответственно).

Среди больных с ранним и поздним началом псориаза было обнаружено повышение встречаемости В16 примерно с одинаковой частотой в обеих группах, по сравнению с контрольной группой. Группа больных с началом псориаза в молодом возрасте отличалась положительной ассоциативной связью с антигеном В13 ($OR = 3,29$; $p < 0,001$), тогда как в группе больных с более поздним началом псориаза наблюдалась связь с В27 ($OR = 5,53$; $p < 0,001$). Выявлены положительные и отрицательные ассоциации отдельных HLA-антигенов локуса В не только с ПсА в целом, но и с его клиническими вариантами.

Заключение

Таким образом, проведенное исследование выявило различное участие антигенов системы HLA в развитии ПсА и формировании клинических вариантов суставного синдрома и позволило уточнить влияние наследственной предрасположенности на развитие ПсА в нашем регионе. Также выявлена четкая ассоциация заболевания и его клинических вариантов с антигенами системы HLA.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К РАЗВИТИЮ ЛАТЕНТНОЙ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

Н.П. Бабушкина, Е.Ю. Брагина, А.Ф. Гараева, И.А. Гончарова,
Д.Ю. Цитриков, Д.Е. Гомбоева, А.А. Рудко, М.Б. Фрейдin

НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

Туберкулез является значимой медико-социальной проблемой в связи с широкой распространенностью, высокой степенью инвалидизации и смертности населения. После контакта с *M. tuberculosis* инфицирование происходит у 80–90% индивидов. У подавляющего большинства развивается латентная туберкулезная инфекция (ЛТБИ) – состояние, при котором не выявляются клинические и рентгенологические признаки заболевания, но бактерии в организме присутствуют, вызывая положительные аллергические реакции на туберкулезные аллергены. Примерно у 10% лиц с ЛТБИ в дальнейшем развивается активная форма туберкулеза, причем у 5% заболевание появляется в первый год, и еще у 5% – в любой период на протяжении всей жизни [1]. У 90% лиц с ЛТБИ активная форма не развивается; т. е., возможно, что их индивидуальные иммунологические особенности, детерминируемые генетическими факторами, позволяют сдерживать развитие активных клинических проявлений туберкулеза.

В настоящем исследовании проведен ассоциативный анализ 62 SNP с ЛТБИ (группа включала 38 мальчиков (9,6 ± 3,3 лет) и 32 девочки (8,9 ± 3,5 лет)); диагностика проводилась специалистами ОГБУЗ

«Томский фтизиопульмонологический медицинский центр». Контрольная группа представлена 445 здоровыми индивидами без бронхолегочной патологии (средний возраст мужчин составил 41,5 ± 16,7 лет, женщин – 38,3 ± 17,2 года). Генотипирование осуществлялось методами MALDI-TOF масс-спектрометрии, ПЦР-ПДРФ-, SNaPshot- и HRM-анализов. Исследования выполнены на базе Центра коллективного пользования научно-исследовательским оборудованием и экспериментальным биологическим материалом «Медицинская геномика» НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

Статистическая обработка данных выполнена с помощью логистической регрессии, MB-MDR-анализа; отношение шансов (OR) и 95%-й доверительный интервал (CI) рассчитывались стандартными методами с использованием критерия Фишера для низкополиморфных локусов.

Анализ ассоциаций проводился с помощью логистической регрессии. Из анализа были исключены 17 вариантов, не прошедших один из трех фильтров (частота редкого аллеля > 5%, уровень генотипирования индивидов > 80%, соответствие равновесию Харди–Вайнберга в группе контроля). Для исключе-

ния ложноположительных результатов использовали пермутационный тест ($N = 1\,000$).

Три из 45 прошедших фильтры маркеров оказались ассоциированы с ЛТБИ: rs2505675 (интронный вариант в гене некодирующей РНК *GMDS-AS1* (*LOC100508120*) в хромосомном регионе 6p25.2), rs6676375 (межгенный вариант в регионе 1q43), rs958617 (межгенный вариант в 4q21.1). Рисковыми для развития латентного туберкулеза в томской выборке являются: аллель С rs2505675 ($OR = 1,52$; 95% CI : 1,00–2,31; $\chi^2 = 3,93$; $p = 0,047$), аллель G ($OR = 1,63$; 95% CI : 1,02–2,60; $\chi^2 = 4,24$; $p = 0,040$) и генотип GG ($OR = 1,76$; 95% CI : 1,01–3,07; $\chi^2 = 4,03$; $p = 0,045$) rs958617, а также генотип CC rs6676375 ($OR = 3,84$; 95% CI : 1,30–11,33; $\chi^2 = 4,18$; $p = 0,041$, для критерия Фишера $p_f = 0,031$). Ранее были показаны ассоциации данных SNP с туберкулезом в группе больных из ЮАР (капские малайцы) [2].

Для выявления информативных для оценки риска развития ЛТБИ межлокусных комбинаций генотипов, характеризующих возможные межгенные

(эпистатические) взаимодействия, был использован непараметрический метод MB-MDR. Диагностическую ценность полученных комбинаций оценивали с помощью расчета величин отношения шансов, чувствительности и специфичности, а также показателя AUC (площадь под ROC-кривой).

Для латентного туберкулеза получены 4 двухлокусных статистически значимых модели ($p < 0,01$) и 5 – трехлокусных ($p < 0,001$), включающих как два из ассоциированных с ЛТБИ полиморфных варианта, так и 12 SNP, ассоциаций которых с патологией методом логистической регрессии выявлено не было. Значения AUC для полученных моделей не превышают 0,61, во всех случаях получены высокие величины показателя специфичности (от 0,76 до 1) и низкие (от 0,032 до 0,46) величины показателя чувствительности. Детальное рассмотрение полученных моделей позволило для каждой межлокусной комбинации получить от одного до трех сочетаний генотипов, предрасполагающих к развитию ЛТБИ (таблица).

Предрасполагающие к развитию ЛТБИ межлокусные комбинации генотипов

Межлокусная комбинация	Рисковое сочетание	Частота в ЛТБИ	OR	95% CI	χ^2	p	p_f
rs6455894/rs12211969	CC/AG	11,43	3,67	1,36–9,70	7,32	0,007	0,007
rs6676375/rs17217757	CC/GC	7,14	13,04	2,18–99,34	11,25	0,0008	0,002
rs6676375/rs17217757/rs10956514	CT/GG/AA	18,46	3,3	1,48–7,28	9,45	0,002	–
	CC/GC/AG	4,62	15,66	2,27–108,02	8,38	0,0038	0,008
rs3915165/rs712039/rs1799983	GT/CT/GG	11,59	4,68	1,67–12,91	10,19	0,0014	0,0025
	GG/TT/GT	7,25	3,5	1,21–10,14	–	–	0,04
rs3915165/rs2837857/rs160441	GT/CC/CC	11,59	3,99	1,46–10,68	8,27	0,004	0,0051
	GT/CT/CT	8,7	5,31	1,57–17,6	8,53	0,0035	0,0054
rs3915165/rs2837857/rs10956514	GT/CC/AA	15,63	4,17	1,69–10,14	11,25	0,0008	0,0015
	GT/CT/AG	10,94	4,6	1,54–13,48	8,64	0,0033	0,0048
rs7821565/rs2837857/rs2273061	TT/CC/CT	30,16	1,97	1,04–3,71	4,37	0,037	–
	CT/CC/CC	14,29	2,7	1,09–6,52	4,76	0,029	0,028
	CT/CT/CT	14,29	2,83	1,14–6,87	5,23	0,022	0,025
rs1819084/rs2273061	CC/CT	46,03	2,65	1,46–4,79	11,29	0,0008	–
rs958617/rs2273061	GG/CT	41,27	2,7	1,51–4,83	12,3	0,00045	–

Обращает на себя внимание тот факт, что два (rs6455894 и rs12211969) из 14 SNP, образующих ассоциированные с ЛТБИ межлокусные комбинации генотипов, локализованы в одном гене (*PACRG*), а еще шесть полиморфных вариантов участвуют в формировании более чем одного межгенного сочетания генотипов. Так, rs2273061 задействован в двух двухлокусных моделях и одной трехлокусной, rs2837857 и rs3915165 – в трех трехлокусных, rs10956514 – в двух трехлокусных, rs6676375 и rs17217757 – в двухлокусной и трехлокусной моделях. Из этих SNP rs6676375 локализован в межгенном регионе, rs2837857 – в гене *DSCAM*, кандидатном для синдрома Дауна (кодирует клеточную адгезивную молекулу Ig-надсемейства) [3]. Остальные SNP находятся в генах, для которых показана вовлеченность в иммунные процессы напрямую или опосредованно. Так, продукт гена *ASAP1* (rs10956514) участвует в формировании цитоскелета, в дендритных клетках с пониженным уровнем экспрессии данного гена показаны нарушения как структуры внутриклеточного матрикса, так и миграции этих клеток [4].

В процессы гемопоэза, в том числе и в определение пути клеточной дифференцировки Т-лимфоцитов [5], вовлечены гены *JAG1* (rs2273061), кодирующий лиганд Notch1-рецептора [6], и *ZFPM2* (rs17217757), кодирующий транскрипционный фактор, модулирующий активность GATA-1 [7]. Ген *CD80* кодирует мембранный рецептор В-лимфоцитов, моноцитов, дендритных клеток, индуцирующий пролиферацию Т-лимфоцитов и продукцию цитокинов в ответ на стимуляцию микробными компонентами [8]. Функция гена *PACRG* не вполне ясна, он включен в большие шаперонные комплексы, связан с убиквитин-зависимой системой протеолиза. Промоторный регион, регулирующий экспрессию локализованных «голова к голове» генов *PACRG* и *PARK2* (мутации в котором приводят к болезни Паркинсона в молодом возрасте), ассоциирован с лепрой [9].

Таким образом, полученные результаты указывают на значимую роль эпистатических взаимодействий генов в развитии ЛТБИ, а кроме того, позволяют охарактеризовать клеточные процессы, потенциально определяющие специфический ста-

тус иммунной системы, позволяющий сдерживать активность *M. tuberculosis*, что выражается в отсутствии клинических проявлений ТБ при наличии бактерий в организме.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ (проект № 15-15-00074).

Литература

1. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению латентной туберкулезной инфекции у детей / под ред. В.А. Аксеновой. М., 2015.
2. Chimusa E.R., Zaitlen N., Daya M. et al. Genome-wide association study of ancestry-specific TB risk in the South African Coloured population // *Hum. Mol. Genet.* 2014. V. 23, № 3. P. 796–809.
3. Barlow G.M., Chen X.-N., Shi Z.Y. et al. Down syndrome congenital heart disease: a narrowed region and a candidate gene // *Genet. Med.* 2001. V. 3. P. 91–101.
4. Curtis J., Luo Y., Zenner H.L. et al. Susceptibility to tuberculosis is associated with variants in the ASAP1 gene encoding a regulator of dendritic cell migration // *Nat. Genet.* 2015. V. 47, № 5. P. 523–527.
5. Вшивкова О.С., Мелешко А.Н. Роль транскрипционного фактора Ikaros в нормальном гемопоэзе и лейкозогенезе: биологические и клинические аспекты // *Успехи молекулярной онкологии.* 2015. Т. 2, № 1. С. 13–26.
6. Fernandez-Sanchez V., Pelayo R., Flores-Guzman P. et al. In vitro effects of stromal cells expressing different levels of Jagged-1 and Delta-1 on the growth of primitive and intermediate CD34(+) cell subsets from human cord blood // *Blood. Cells. Mol. Dis.* 2011. V. 47, № 4. P. 205–213.
7. Holmes M., Turner J., Fox A. et al. hFOG-2, a novel zinc finger protein, binds the co-repressor mCtBP2 and modulates GATA-mediated activation // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. P. 23491–23498.
8. Takeda K., Kaisho T., Akira S. Toll-Like receptors // *Annu. Rev. Immunol.* 2003. V. 21. P. 335–376.
9. Mira M.T., Alcais A., Van Thuc N. et al. Susceptibility to leprosy is associated with *PARK2* and *PACRG* // *Nature.* 2004. V. 427. P. 636–640.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ ПОЛИМОРФИЗМА -1306С/Т (RS243865) ГЕНА *MMP2* С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА У РУССКИХ ЖИТЕЛЕЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ РОССИИ

А.С. Барышев, Е.И. Косинова, С.Я. Запесоцкая,
Е.М. Барышева, А.В. Полоников, О.Ю. Бушуева

Курский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Курск

На протяжении нескольких десятилетий болезни системы кровообращения, в частности ишемическая болезнь сердца (ИБС), занимают лидирующие позиции в структуре заболеваемости и смертности как в России, так и во всем мире. По данным Росстата, в 2015 г. от болезней системы кровообращения умерли 930 102 человека, что составило 48,7% от общего числа умерших [1]. Высокая смертность, тяжелая инвалидизация, значимое ухудшение состояния здоровья и качества жизни населения делают изучение этиопатогенеза ИБС, а также поиск путей превентивной диагностики и профилактики данного заболевания наиболее актуальными вопросами современного здравоохранения.

Известно, что ИБС представляет собой мультифакторильную патологию, в развитии которой участвуют как средовые факторы риска, так и генетические. Одним из известных механизмов развития данного заболевания является ремоделирование белков экстрацеллюлярного матрикса, приводящее к нарушению архитектоники сердечной мышцы и сосудов вследствие увеличения количества коллагеновых волокон в экстрацеллюлярном пространстве [2]. За процесс протеолиза соединительной ткани отвечает семейство матриксных металлопротеиназ (MMPs), в частности MMP2 – за деградацию основного компонента базальных мембран, коллагена IV [3, 4]. Литературные данные относительно взаимосвязи данного гена с развитием ИБС немногочисленны и противоречивы.

Цель исследования – изучение ассоциации функционально значимого полиморфизма –1306 С/Т (rs243865) гена *MMP2* с риском развития ИБС у русских жителей Центральной России.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили образцы ДНК популяционной выборки русских жителей, проживающих в Курской области. В исследование были вовлечены 255 больных ИБС (162 мужчины, 92 женщины, средний возраст $60,0 \pm 9,5$ лет), находившихся на стационарном лечении в кардиологических отделениях Курской областной клинической больницы и Городской больницы скорой медицинской помощи г. Курска в период с 2011 по 2016 г. Пациенты включались в исследуемую группу после верификации окончательного диагноза заболевания, подтвержденного с помощью клинических и лабораторно-инструментальных методов обследования. Группу сравнения составили 354 практически здоровых добровольца (197 мужчин, 157 женщин, средний возраст $62,8 \pm 7,8$ лет). Критерием включения индивидов в контрольную группу были отсутствие сердечно-сосудистых заболеваний в анамнезе и нормальный уровень артериального давления. По полу больные не отличались от контрольной группы ($p > 0,05$). Средний возраст больных был ниже, чем в контрольной группе ($p < 0,01$).

У всех пациентов проводился забор венозной крови. Выделение геномной ДНК осуществляли из размороженной венозной крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование полиморфизма –1306С/Т гена *MMP2* проводилось методом ПЦР в режиме реального времени путем дискриминации аллелей с помощью TaqMan-зондов на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad) с использованием праймеров и зондов, синтезированных компанией «Синтол» (г. Москва).

Для оценки ассоциаций аллелей и генотипов с риском развития ИБС использовали критерий χ^2 и отношение шансов (OR) с 95%-м доверительным интервалом (CI). Статистическая обработка данных проводилась на персональном компьютере с использованием программных пакетов Statistica 8.0 (StatSoft) и MS Excel 2010.

Результаты

Как видно из данных таблицы, мы обнаружили, что аллель Т rs243865 гена *MMP2* ассоциирован с

повышенным риском развития ИБС. В то же время у носителей гомозиготного генотипа CC по данному полиморфному варианту риск развития заболевания снижен.

Таким образом, согласно результатам проведенного нами исследования, полиморфизм –1306C/T (rs243865) гена *MMP2* ассоциирован с риском развития ишемической болезни сердца в популяции русских жителей Центральной России. Однако требуются функциональные исследования и подтверждающие исследования в других популяциях мира.

Распределение аллелей и генотипов по полиморфному варианту –1306C/T (rs243865) гена *MMP2* у пациентов с ИБС и здоровых лиц

Аллели, генотипы		Больные ИБС, общая группа (n = 255) N (%) ¹	Контрольная группа (n = 354) N (%) ¹	χ^2 (p) ²	OR (95% CI) ³
Аллели	С	0,729	0,787	5,38 (0,02)*	1,37 (1,05–1,78)
	Т	0,271	0,213		
Генотипы	СС	131 (51,4)	215 (60,7)	5,29 (0,02)*	0,73 (0,53–1,02)
	СТ	110 (43,1)	127 (35,9)	3,29 (0,07)	1,36 (0,98–1,89)
	ТТ	14 (5,5)	12 (3,4)	1,60 (0,21)	1,66 (0,75–3,64)

Примечание. n – число обследованных индивидов.

¹ N (%) – абсолютное число (процент) лиц с исследуемым генотипом; ² Хи-квадрат и p – уровень значимости (df = 1); ³ отношение шансов с 95%-м доверительным интервалом; * отмечены статистически значимые различия между группами.

Литература

1. Российский статистический ежегодник. 2016: стат. сб. / Росстат. Р76. М., 2016. 725 с.
2. Wilson E.M., Spinale F.G. Myocardial remodeling and matrix metalloproteinases in heart failure: turmoil within the interstitium // *Annals of medicine*. 2001. V. 33, № 9. P. 623–634.

3. Sternlicht M.D., Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior // *Annual review of cell and developmental biology*. 2001. 17, № 1. P. 463–516.
4. Потеряева О.Н. Матриксные металлопротеиназы: строение, регуляция, роль в развитии патологических состояний обзор литературы // *Медицина и образование в Сибири*. 2010. № 5.

ПОИСК ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ, СВЯЗАННЫХ С НАРУШЕНИЯМИ КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ ЧЕЛОВЕКА ПРИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

А.В. Бочарова¹, А.В. Марусин¹, О.А. Макеева^{1,2}, В.А. Степанов^{1,3}, И.А. Жукова⁴, Н.Г. Жукова⁴, В.М. Алифорова⁴

¹ НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

² Центр клинических исследований «Неббиоло», г. Томск

³ Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск

⁴ Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск

Процесс рационального познания мира и взаимодействие с ним осуществляются с помощью сложных функций головного мозга, которые называются когнитивными (высшие психические, высшие корковые, познавательные) [1]. Любые процессы, связанные с информацией, получаемой из внешнего мира, относятся к когнитивным функциям. Выделяют несколько основных компонентов:

- восприятие информации (гнозис);
- анализ и обработка информации (интеллект);
- хранение информации (память);
- передача информации (речь);
- двигательные навыки (праксис);
- поддержание оптимального уровня психической активности (внимание).

Если какое-либо заболевание является причиной ухудшения хотя бы одной из этих функций по сравнению с исходным уровнем, то можно говорить о когнитивных нарушениях (КН) [2]. Риск развития таких нарушений увеличивается с преодолением человеком 65-летнего возраста, и с каждым годом количество страдающих от разных форм КН возрастает. Это связано с тем, что в последние десятилетия во всем мире наблюдается изменение возрастной структуры популяций людей: с повышением средней продолжительности жизни населения цивилизованных стран увеличивается доля пожилых и старых индивидуумов. От этого увеличиваются расходы на медицинскую и социальную помощь для психических и неврологических больных. Большую часть подобных больных составляют люди с деменцией.

В настоящее время в мире насчитывается более 36,5 млн человек, которые страдают от деменции, и большинство из этих случаев связано с болезнью Альцгеймера (БА) [3]. Каждый год в популяции регистрируется 5–7 млн новых случаев БА [4]. Приведенные выше данные указывают на важность изучения причин нарушений когнитивных функций.

Цель исследования – поиск генетических маркеров болезни Альцгеймера у русских на основе репликативного анализа маркеров, выявленных в широкогеномных исследованиях БА, шизофрении и когнитивных функций.

Материалы и методы

Группу обследуемых составили 106 больных БА и 287 здоровых в отношении психоневрологических заболеваний пожилых индивидов контрольной группы русского происхождения. В состав группы больных вошли пациенты кафедры неврологии и нейрохирургии Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск) с диагнозом «болезнь Альцгеймера» (код G.30 по МКБ-10).

Для репликативного анализа ассоциаций нами были выбраны 30 однонуклеотидных генетических маркеров, для которых была выявлена высокозначимая ($p \leq 5 \times 10^{-6}$) ассоциация с когнитивными функциями, или БА, или шизофренией по данным полногеномных ассоциативных исследований (GWAS) или метаанализа. Формирование мультиплекса для MALDI-TOF масс-спектрометрии проводилось с помощью Assay Design Suite v2.0 (<https://www.mysequenom.com/Tools>). В результате был сгенерирован мультиплекс, содержащий 30 SNP, локализованных в 22 генах и 5 межгенных регионах. Экспериментальные исследования проведены на базе Центра коллективного пользования научно-исследовательским оборудованием и экспериментальным биологическим материалом «Медицинская геномика» (НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ).

Тестирование равновесия Харди–Вайнберга выполняли общепринятыми методами популяционной биометрии. Сравнение частот аллелей и генотипов в группах проводили с помощью критерия χ^2 . Силу ассоциаций оценивали с помощью показателя отношения шансов OR и его 95%-го доверительного интервала (95% CI).

Результаты

Два SNP (*TCF4* rs1261117 и rs17594526) были исключены из окончательного анализа в группах больных БА и контроле, потому что они показали значение параметра «call rate» (доля определенных генотипов из всех возможных) меньше 87%. Показатель «call rate» для других маркеров был выше 98%. Распределение генотипов по трем локусам (*CNTNAP2* rs10273775, *LOC105373605* rs12989701, *DCHS2* rs1466662) не соответствовало равновесию

Харди–Вайнберга в контрольной группе. Поэтому эти три полиморфных варианта тоже были исключены из дальнейшего анализа. Для одного из 25 SNP при сравнении исследованных выборок выявлена статистически значимая ассоциация с болезнью Альцгеймера. Минорный аллель G rs12922317 гена *SNX29* статистически значимо чаще встречался среди больных БА по сравнению с контрольной группой (OR = 1,57; 95% CI: 1,14–2,16; $p = 0,006$).

Продуктом гена *SNX29* является белок, который относится к семейству сортирующих нексин. Это группа клеточных белков переноса локализованных в цитоплазме, имеющих общий фосфолипид-связывающий участок. Белки этого семейства могут связывать специфические фосфолипиды и формировать мембранно-ассоциированные белковые комплексы через белок-белковые взаимодействия. Сортирующий нексин 29 присутствует во внеклеточных экзосомах и цитозоле и, по всей видимости, принимает участие в регуляции переноса через мембрану и сортировке белков. Хочется отметить, что в других работах была показана роль маркера rs12922317 гена *SNX29* в развитии таких заболеваний, как шизофрения, В-клеточная лимфома яичка и эпителиальная овариальная карцинома [5–7].

В заключение хочется отметить, что установленная в данной работе статистически значимая связь аллеля G и генотипа GG полиморфного варианта rs12922317 гена *SNX29* с фенотипом «болезнь Альцгеймера» в русской популяции, возможно, является общим фактором риска для заболеваний, которые приводят к нарушениям когнитивных функций человека разной степени тяжести, такие как шизофрения и болезнь Альцгеймера.

Исследование выполнено за счет гранта РФ № 16-15-00020.

Литература

1. Яхно Н.Н., Захаров В.В., Локшина А.Б. и др. Деменции: руководство для врачей. 3-е изд. М.: МЕДпресс-информ, 2011. 272 с.
2. Яхно Н.Н. Когнитивные расстройства в неврологической клинике // Неврологический журнал. 2006. Т. 11, прил. № 1. С. 4–12.
3. Lezak M.D. Neuropsychology assessment. New York: University Press, 1983. P. 768.
4. Sosa-Ortiz A.L., Acosta-Castillo I., Prince M.J. Epidemiology of dementias and Alzheimer's disease // Arch. Med. Res. 2012. V. 43. P. 600–608.
5. Børglum A., Demontis D., Grove J. et al. Genome-wide study of association and interaction with maternal cytomegalovirus infection suggests new schizophrenia loci // Mol. Psychiatry. 2014. V. 19. P. 325–333.
6. Twa D.D., Mottok A., Chan F.C. et al. Recurrent genomic rearrangements in primary testicular lymphoma // J. Pathol. 2015. V. 236, № 2. P. 136–141.
7. Zhu L., Hu Z., Liu J. et al. Gene expression profile analysis identifies metastasis and chemoresistance-associated genes in epithelial ovarian carcinoma cells // Med. Oncol. 2015. V. 32, № 1. P. 426.

МЕЖГЕННЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ И ТУБЕРКУЛЕЗЕ ЛЕГКИХ

**Е.Ю. Брагина¹, Н.П. Бабушкина¹, И.Ж. Жалсанова¹, М.Б. Фрейдин¹,
А.Ф. Гараева¹, О.В. Колоколова², В.П. Пузырёв^{1,2}**

¹ НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

² Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск

Феномен сочетанных болезней, приводящих к нарушению функции сердечно-сосудистой, бронхолегочной и других систем в организме человека, представляет важнейшую проблему современной медицины. Получено много доказательств, что один из вариантов этого феномена – синтропии (частое сочетание болезней) – обусловлен фенотипическим проявлением синтропных генов, которые представляют собой совокупность функционально взаимодействующих генов, вовлеченных в общий для данной синтропии патогенез [1]. Альтернативные отношения между заболеваниями – дистропии – представляют собой крайне редкое сочетание болезней у одного индивидуума [2]. Дистропии менее изучены и не так часто встречаются, в отличие от синтропий. В основе дистропий могут лежать различные факторы, среди которых важная роль отводится так называемым дистропным генам [1].

Примером дистропии является редкое сочетание атопической бронхиальной астмы (БА) и туберкулеза легких (ТБ) [3, 4]. БА и ТБ, так же как и большинство широко распространенных в популяции человека заболеваний, сложны и развиваются благодаря взаимодействию многих генетических и средовых факторов. В результате различных подходов, включая подход генов-кандидатов, полногеномный ассоциативный анализ, были идентифицированы связи сотни локусов с развитием БА, ТБ и их разнообразными клиническими проявлениями. Тем не менее большинство выявленных генетических вариантов объясняет очень малую долю подверженности для этих заболеваний, а значительная часть генов относится к так называемой упущенной наследуемости [5] и по-прежнему остается не идентифицированной.

Межгенные, а также ген-средовые взаимодействия распространенных в популяциях полиморфных вариантов, затрагивающих регуляцию транскрипции генов, наряду с эпигенетическими и структурными вариациями рассматриваются в качестве основных факторов «упущенной наследуемости» [6]. Поэтому исследование этих взаимодействий является важным в понимании структуры наследственной компоненты не только отдельных многофакторных болезней, но и их частых / редких сочетаний.

Цель исследования – изучение взаимодействия полиморфных вариантов генов цитокинов *IL10* (rs1800872), *IL8* (rs4073), *IL1B* (rs16944), *TNF* (rs1800629), *TNFRSF1B* (rs525891) и *CXCL10* (rs4386624, rs56061981) у больных атопической БА и ТБ индивидов.

Материалы и методы

Исследованы 154 пациента с атопической БА (средний возраст 41,14 ± 12,97 лет), включая 118 женщин и 36 мужчин. Группу больных ТБ составили

304 индивида (средний возраст – 29,97 ± 16,07 лет), включая 107 женщин и 197 мужчин. Контрольную выборку составили 255 здоровых индивидов (средний возраст 44,83 ± 21,66 года), включая 194 женщины и 61 мужчину. Все обследованные являются преимущественно русскими, проживающими на территории г. Томска и Томской области.

Для генотипирования выбраны регуляторные варианты в 5'UTR регионах наиболее важных для развития обоих заболеваний генов цитокинов. Генотипирование проводили с использованием ПЦР в режиме реального времени и ПЦР-ПДРФ анализа. Фрагменты ПЦР-ПДРФ анализа визуализировали в 3–4%-м агарозном геле в УФ свете. Исследования выполнены на базе Центра коллективного пользования научно-исследовательским оборудованием и экспериментальным биологическим материалом «Медицинская геномика» НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

Анализ межгенных взаимодействий проводили с помощью метода генерализованного снижения многофакторной размерности (GMDR), который позволяет оценить все возможные *n*-факторные модели, выбирая наилучшую, позволяющую предсказать наличие / отсутствие предрасположенности заболеванию [7, 8]. Величины *p*-значений для полученных моделей оценивали с помощью перестановочного тестирования (1 000 пермутаций; p_{perm}).

Результаты

Все полученные модели взаимодействий генетических вариантов как для БА, так и для ТБ характеризовались невысокой чувствительностью и специфичностью. Сбалансированная точность оптимальной модели межгенных взаимодействий для БА, включающей все 7 изученных вариантов, составила 0,6400, чувствительность – 0,5702 и специфичность – 0,7098 ($p_{perm} = 0,0310$).

Среди исследованных комбинаций полиморфных вариантов генов для ТБ две модели имели наилучшие характеристики, включая двухлокусную (*IL10* rs1800872 и *CXCL10* rs56061981) и трехлокусную (*IL1B* rs16944, *TNFRSF1B* rs525891, *CXCL10* rs4386624) модели. Однако ни одна из этих моделей не является оптимальной по своей чувствительности и специфичности ($p_{perm} > 0,05$). Стоит отметить, что для отдельных полиморфных вариантов, включенных в анализ межгенных взаимодействий, ранее установлены ассоциации с заболеваниями. Повышенный риск развития как БА, так и ТБ отмечен у носителей аллеля rs1800872*A гена *IL10*. Также установлена ассоциация регуляторного полиморфного варианта в гене *CXCL10* (rs56061981) с развитием ТБ [9].

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о важной роли взаимодействий полиморфных вариантов генов цитокинов, которые в совокупности

оказывают влияние на развитие БА, но не связаны с развитием ТБ. Эти особенности межгенного взаимодействия патогенетически важных для обоих заболеваний генов могут отчасти объяснять редкое совместное фенотипическое проявление БА и ТБ.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ № 15-04-05852.

Литература

1. Пузырёв В.П. Генетический взгляд на феномен сочетанной патологии человека // Медицинская генетика. 2008. № 9. С. 3–9.
2. Puzyrev V.P., Makeeva O.A., Freidin M.B. Syntropy, genetic testing and personalized medicine // Personalized Medicine. 2010. № 7 (4). P. 399–405.
3. Яблоков Д.Д. Бронхиальная астма и туберкулез легких // Клиническая медицина. 1968. № 46 (12). С. 20–28.
4. Fekih L., Boussoffara L., Jemaa M. et al. Tuberculosis in patients with asthma // Rev. Mal. Respir. 2010. V. 27, № 7. P. 679–684.
5. Manolio T.A., Collins F.S., Cox N.J. et al. Finding the missing heritability of complex diseases // Nature. 2009. V. 461, № 7265. P. 747–753.
6. Zuk O., Hechter E., Sunyaev S.R., Lander E.S. The mystery of missing heritability: Genetic interactions create phantom heritability // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2012. V. 109, № 4. P. 1193–1198.
7. Lou X.Y., Chen G.B., Yan L. et al. A generalized combinatorial approach for detecting gene by gene and gene by environment interactions with application to nicotine dependence // American Journal of Human Genetics. 2007. V. 80. P. 1125–1137.
8. Chen G.B., Xu Y., Xu H.M. et al. Practical and theoretical considerations in study design for detecting gene-gene interactions using MDR and GMDR approaches // PLoS ONE. 2011. V. 6. e16981.
9. Брагина Е.Ю., Фрейдлин М.Б., Бабушкина Н.П. и др. Анализ генов цитокиновой сети в развитии «обратной» коморбидности для бронхиальной астмы и туберкулеза // Медицинская генетика. 2017. Т. 16, № 1. С. 20–24.

ПОЛИМОРФИЗМ -21С>Т ГЕНА КАТАЛАЗЫ АССОЦИИРОВАН С РАЗВИТИЕМ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

О.Ю. Бушуева, А.В. Полоников, М.А. Солодилова, Е.К. Вялых, В.П. Иванов

Курский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Курск

Окислительный стресс, характеризующийся дисбалансом между генерацией активных форм кислорода (АФК) и антиоксидантной защитой, вовлечен в патогенез артериальной гипертензии (АГ). Каталаза (CAT) является важным антиоксидантным ферментом, который разлагает гидроперекиси до кислорода и воды, защищая тем самым клетки от избытка АФК. Вариации в промоторной области гена CAT могут снижать его транскрипционную активность и экспрессию, тем самым способствуя развитию АГ за счет усиления окислительного стресса в сосудистой стенке. Частый полиморфизм -21А>Т, также известный как -89А/Т (rs7943316), локализован в промоторе гена каталазы. Насколько нам известно, взаимосвязи между полиморфизмом -21С>Т и артериальной гипертензией до настоящего времени не исследовалась.

Цель исследования – изучение ассоциации полиморфного варианта -21А>Т гена CAT с предрасположенностью к АГ.

Материалы и методы

В исследовании участвовали 866 пациентов с АГ (430 мужчин, 436 женщин) и 610 здоровых лиц (274 мужчины, 336 женщин) с нормальным артериальным давлением. Средний возраст пациентов с АГ составил $53,82 \pm 10,6$ лет, средний возраст контрольной группы – $55,78 \pm 8,7$ лет. Пациенты контрольной группы были старше гипертоников ($p < 0,01$). Диагноз гипертонической болезни устанавливался квалифицированными кардиологами в соответствии с критериями ВОЗ. У всех пациентов с АГ не было клинических признаков, симптомов и лабораторных данных, указывающих на симптоматическую АГ. Генотипирование полиморфных вари-

антов проводили методом ПЦР в режиме реального времени путем дискриминации аллелей с помощью TaqMan-зондов на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad).

Результаты

Распределение генотипов изученных полиморфных вариантов гена CAT соответствовало равновесию Харди–Вайнберга как у больных АГ, так и в контрольной группе ($p > 0,05$). При сравнительном анализе частот аллелей и генотипов между группой больных АГ и контролем (общие группы) различий выявлено не было. В таблице представлен сравнительный анализ частот аллелей и генотипов, стратифицированный по полу. Было обнаружено, что носительство генотипа -21АА связано с повышенным риском гипертонической болезни у мужчин ($OR = 1,69$; 95% CI: 1,05–2,72; $p = 0,03$), тогда как у женщин не было обнаружено ассоциации этого генотипа с риском заболевания АГ.

Каталаза является одним из ключевых ферментов, ответственных за элиминацию АФК. Возможные механизмы этой ассоциации могут быть связаны с эндотелиальной дисфункцией, поскольку было обнаружено, что гидроперекиси модулируют различные функции эндотелиальных клеток, такие как рост, пролиферация, реорганизация цитоскелета, апоптоз, воспалительные реакции, релаксация сосудов и ремоделирование [1]. Анализируя полученные данные, мы полагаем, что аллель -21А и генотип -21АА ассоциированы с пониженной экспрессией каталазы, хотя функциональных исследований данного полиморфизма мы не обнаружили. Таким образом, полиморфизм -21А>Т гена CAT может способствовать патогенезу гипертонии через механизмы, связанные с окислительным стрессом из-за

недостаточной детоксикации гидроперекисей у носителей генотипа –21АА. Наше предположение подтверждает предыдущее исследование, в котором показан защитный эффект аллеля –21Т гена *CAT* относительно развития бронхиальной астмы [2].

Скорее всего, аллель –21А связан со сниженной скоростью элиминации гидропероксидов и более выраженным окислительным стрессом, тем самым предрасполагает ко многим многофакторным заболеваниям.

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфизма –21А>Т гена *CAT* у больных АГ и в контрольной группе (стратифицированный по полу анализ)

Частота аллелей и генотипов по –21А>Т гена <i>CAT</i>	Больные АГ (n = 866) N (%) ¹	Контроль (n = 610) N (%) [*]	χ^2	OR (95% CI)
Мужчины (n = 704)				
–21А	0,373	0,349	0,88 (0,35)	0,90 (0,72–1,12)
–21Т	0,627	0,651		
–21АА	27 (9,9)	67 (15,6)	4,75 (0,03)*	1,69 (1,05–2,72)
–21АТ	137 (50,0)	187 (43,5)	2,86 (0,09)	1,30 (0,96–1,76)
–21ТТ	110 (40,1)	176 (40,9)	0,04 (0,84)	0,97 (0,71–1,32)
Женщины (n = 772)				
–21А	0,376	0,378	0,01 (0,94)	1,01 (0,82–1,24)
–21Т	0,624	0,622		
–21АА	66 (15,1)	49 (14,6)	0,05 (0,83)	0,96 (0,64–1,43)
–21АТ	196 (45,0)	156 (46,4)	0,17 (0,68)	0,94 (0,71–1,25)
–21ТТ	174 (39,9)	131 (39,0)	0,07 (0,80)	1,04 (0,78–1,39)

Примечание. n – число обследованных индивидов.

¹ N (%) - абсолютное число (процент) лиц с исследуемым генотипом; ² Хи-квадрат и p – уровень значимости (число степеней свободы – df = 1); ³ отношение шансов с 95%-м доверительным интервалом. * отмечены статистически значимые различия между сравниваемыми группами.

В заключение следует отметить, что это исследование впервые показало ассоциацию полиморфизма –21А>Т гена каталазы с развитием артериальной гипертензии. Однако связь генотипа –21АА с риском гипертензии наблюдалась только у мужчин. Для лучшего понимания молекулярных механизмов, лежащих в основе этой ассоциации, необходимы функциональные исследования, в частности анализ генной экспрессии. Несомненно, необходимы дальнейшие исследования для подтверждения ассоциации исследуемого полиморфизма с артериальной гипертензией в других популяциях и обоснования роли этого фермента в патогенезе заболевания.

Исследование выполнено за счет гранта РНФ (проект № 15-15-10010).

Литература

1. Cai H. Hydrogen peroxide regulation of endothelial function: origins, mechanisms, and consequences // *Cardiovascular research*. 2005. Т. 68, № 1. С. 26–36.
2. Polonikov A.V., Ivanov V.P., Solodilova M.A. et al. Tobacco smoking, fruit and vegetable intake modify association between –21А>Т polymorphism of catalase gene and risk of bronchial asthma // *Journal of Asthma*. 2009. Т. 46, № 3. С. 217–224.

ПОЛИМОРФИЗМ Т1565С ГЕНА *ITGB3* ПРИ ПОВТОРНЫХ ИНФАРКТАХ МИОКАРДА У ПАЦИЕНТОВ РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП

А.А. Гарганеева, В.А. Александренко, Е.А. Кужелева, Э.Ф. Муслимова, С.А. Афанасьев

НИИ кардиологии Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

Инфаркт миокарда (ИМ) является важной медико-социальной проблемой, в связи с чем поиск новых подходов к его прогнозированию и профилактике представляется наиболее актуальным. Одним из таких подходов является генетический, позволяющий на основании определения аллельных вариантов различного рода генов выявлять ассоциации с развитием данной патологии. В этом контексте перспективным считается изучение гена *ITGB3*, который участвует в процессах коагуляционного каскада посредством обеспечения взаимодействия тромбоцита с фибриногеном плазмы, что

способствует купированию поврежденной поверхности эпителия. Считается, что носительство аллеля 1565С данного гена сопряжено с повышенной степенью агрегации тромбоцитов и, следовательно, усиленной предрасположенностью к атеротромбозу. Учитывая несомненный вклад представленного гена в развитие ИМ, мы исследовали наличие ассоциаций данного гена с развитием повторных инфарктов, что в определенной мере отражает процесс прогрессирования коронарной недостаточности. Вышеизложенное и стало **целью настоящего исследования.**

Материалы и методы

Были обследованы 190 пациентов, перенесших ИМ и включенных в программу Всемирной организации здравоохранения «Регистр острого инфаркта миокарда» (РОИМ). Средний возраст больных на момент включения в исследование составил $59,9 \pm 7,6$ лет для мужчин ($n = 149$) и $67,2 \pm 8,2$ года для женщин ($n = 41$). Все пациенты были разделены на три группы в зависимости от возраста возникновения первого ИМ согласно классификации возрастов Всемирной организации здравоохранения: пациенты молодого возраста (18–44 года) составили 8,4% случаев ($n = 16$), пациенты среднего возраста (45–59 лет) – 70,5% случаев ($n = 134$), пациенты пожилого возраста (60–74 года) – 21,1% случаев ($n = 40$).

Работа была выполнена в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации. Все пациенты, включенные в исследование,

подписали добровольное информированное согласие на участие в нем.

Генетическое исследование на определение аллельных вариантов гена *ITGB3* (полиморфизм T1565C) проводили посредством выделения ДНК из лейкоцитов периферической крови с помощью набора реагентов Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega, USA), далее проводилась амплификация методом ПЦР с помощью наборов SNP-express (НПФ ЛИТЕХ, Россия) с дальнейшей электрофоретической детекцией. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программ Statistica 10 и демоверсии SPSS Statistics 20.0.

Результаты и обсуждение

Распределение генотипов для полиморфного варианта T1565C гена *ITGB3* среди пациентов разных возрастных групп представлено в таблице. Распределение генотипов соответствовало равновесию Харди–Вайнберга ($p > 0,05$).

Распределение генотипов полиморфного варианта T1565C гена *ITGB3* у пациентов, перенесших первый инфаркт миокарда в разном возрасте

Генотип	Пациенты молодого возраста ($n = 16$)	Пациенты среднего возраста ($n = 134$)	Пациенты пожилого возраста ($n = 40$)
T1565T	12 (75,0%)	89 (66,4%)	29 (72,5%)
T1565C	3 (18,8%)	42 (31,4%)	11 (27,5%)
C1565C	1 (6,2%)	3 (2,2%)	–

Проведен анализ течения постинфарктного периода, на основании которого было выявлено, что повторное развитие ИМ среди включенных в исследование пациентов наблюдалось у 56 больных, что составило 29,5% случаев.

При анализе на наличие ассоциации полиморфизма T1565C гена *ITGB3* с повторными ИМ было обнаружено, что аллель 1565C ассоциирован с более редким возникновением повторных ИМ у пациентов среднего возраста ($\chi^2 = 9,49$; $p = 0,002$). В данной группе лишь у 9,3% носителей аллеля 1565C зафиксированы повторные ИМ, при этом большинство носителей данного аллеля (90,7%) не имело повторных ИМ. Такая же тенденция наблюдалась и в группе пациентов молодого возраста, среди которых 75% носителей аллеля 1565C не имели повторных ИМ, и лишь у 25% носителей данного аллеля регистрировались повторные ИМ. Принципиально иной результат был получен в группе пациентов пожилого возраста. В этой группе у носителей аллеля 1565C в равной степени наблюдалось как возникновение, так и отсутствие повторных ИМ (45,5% против 54,5%).

Несмотря на существующее мнение о патологической роли аллеля 1565C и генотипа C1565C в развитии и прогрессировании атеротромбоза, наше исследование показало обратные результаты для групп пациентов молодого и среднего возраста. Результаты, полученные в отношении группы лиц пожилого возраста, не расходятся с литературными

данными. Согласно нашему исследованию, аллель 1565C начинает проявлять свою патологическую роль именно у пациентов, которые на момент первого ИМ имели возраст 60 лет и более. В данной группе больных носители патологического аллеля в равной мере имели шансы на развитие повторных ИМ, чего нельзя сказать о пациентах младших возрастных групп (< 60 лет). Тот факт, что ни один пациент пожилого возраста не является носителем патологического гомозиготного генотипа C1565C, может указывать на выраженное его влияние в возрасте старше 60 лет. Летальные исходы у носителей этого генотипа, по всей видимости, могли возникать и в более раннем возрасте. По этой причине данная категория больных не успела дожить до включения их в группу пожилых.

Выводы

Учитывая недостаточное количество данных мировой литературы по изучаемому вопросу, представленные в исследовании результаты носят предварительный характер. Необходимо дальнейшее изучение полиморфного варианта T1565C гена *ITGB3* у пожилых больных, что позволит открыть новые грани в прогнозировании сердечно-сосудистых событий у пациентов разных возрастных групп.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 16-04-01389/17.

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ В РАЗВИТИИ АЛЛЕРГОДЕРМАТОЗОВ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

Г.Ф. Гималова¹, А.С. Карунас¹, Э.Р. Гуменная², Э.Ф. Хантимерова³,
Ш.З. Загидуллин³, Э.К. Хуснутдинова¹

¹ Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г. Уфа

² Республиканский кожно-венерологический диспансер, г. Уфа

³ Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Уфа

В настоящее время в мире наблюдается неуклонный рост частоты и распространенности аллергических заболеваний кожи, которыми в разных странах страдает до 25% населения. Аллергодерматозы в структуре аллергических заболеваний составляют 20%, а в структуре аллергопатологии детского возраста занимают от 50 до 66% [1]. Атопический дерматит (АД) и крапивница являются одними из наиболее распространенных аллергодерматозов, встречающихся у людей разных возрастов. Цитокины играют ключевую роль на всех стадиях развития и поддержания аллергического воспаления. В ходе многих исследований была показана значительная ассоциация однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) генов цитокинов и их рецепторов с развитием АД и других аллергических заболеваний [2–6].

В нашем исследовании мы проанализировали SNP генов *IL4* (с.–590С>Т), *IL4R* (rs1805010), *IL10* (с.–627С>А), *IL13* (р.Arg144Gln) и *TNF* (rs1800629) у больных аллергодерматозами и в контрольной группе индивидов. Группа больных включала 401 пациента с аллергодерматозами русской и татарской этнической принадлежности, в их числе 299 больных АД и 102 больных крапивницей. Выборка больных АД включала индивидов со среднетяжелым (256 человек) и тяжелым течением заболевания (43 человека). Среди больных АД 147 человек имели клинические проявления только АД и 152 индивида – АД и сопутствующие аллергические заболевания. Контрольную группу составили 257 индивидов без признаков аллергических заболеваний, соответствующих по возрасту и этнической принадлежности. Выделение ДНК проводилось методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование полиморфных локусов осуществлялось методом ПЦР в реальном времени.

При анализе ассоциации полиморфных локусов генов *IL4*, *IL4R*, *IL13*, *TNF* статистически значимых различий в распределении частот аллелей и генотипов этих локусов между выборками больных АД и здоровых индивидов русской и татарской этнической принадлежности не обнаружено. При исследовании rs1800872 гена *IL10* у русских и татар статистически значимые различия в распределении частот аллелей и генотипов данного локуса между больными АД и контрольной группой также не обнаружены. При сравнении распределения частот аллелей и генотипов данного SNP в группах больных АД с сопутствующими аллергическими заболеваниями, без сопутствующих аллергических заболеваний и в контрольной выборке было обнаружено, что у русских больных с клиническими проявлениями только АД с более высокой частотой, чем в контроле, определялся генотип rs1800872*А/С: 49,18 и 33,6% соответственно ($OR = 1,91$; 95% CI : 1,02–3,57; $p = 0,0406$).

Сравнительный анализ распределения частот генотипов полиморфных локусов rs2243250 (с.–590С>Т) гена *IL4*, rs1805010 гена *IL4RA*, rs1800872 (–627С>А) гена *IL10* и rs1800629 (с.–308G>А) гена *TNF* у больных крапивницей и в контрольной группе не выявил статистически значимых различий ни у русских, ни у татар.

Исследование rs20541 (с.431G>А, р.Arg144Gln) гена *IL13* у больных крапивницей и в контрольной группе показало ассоциацию его с развитием заболевания у индивидов русского этнического происхождения. У больных статистически значимо чаще, чем в контроле, был выявлен генотип rs20541*Arg/Gln, с частотами 58,8 и 36,4% соответственно ($OR = 2,5$; 95% CI : 1,11–5,62; $p = 0,02$). У татар различия, выявленные между больными крапивницей и группой контроля, не достигли уровня статистической значимости.

Полученные нами данные частично согласуются с результатами других авторов. Так, ряд исследований, проведенных в Канаде, Японии и других странах, показал ассоциацию rs20541 гена *IL13* с развитием АД [2], что, однако, не подтверждается другими исследованиями [7]. Ранее также была обнаружена ассоциация rs1800872 гена *IL10* с развитием АД [8]. Ассоциации rs2243250 гена *IL4* с развитием аллергодерматозов, как и нами, не обнаружено авторами исследования, проведенного в Китае [7]. Тем не менее у больных из Японии и Канады данный полиморфный локус ассоциирован с развитием АД [2, 3]. Как и в нашей работе, у больных АД из Японии не выявлена ассоциация с развитием заболевания rs1805010 гена *IL4R* [9], однако большое количество исследований полиморфных вариантов данного гена показало его роль в развитии АД и других аллергических заболеваний [10]. Ассоциация SNP гена *TNF* с развитием АД нами не обнаружена, как и в некоторых работах, проведенных в Македонии и Великобритании [11]. Тем не менее показана ассоциация rs1800629 с развитием БА и атопии [12] у больных из США и Испании.

Таким образом, в результате проведенного исследования нами выявлено, что у русских маркером повышенного риска развития атопического дерматита является генотип rs1800872*А/С полиморфного локуса гена *IL10*, а маркером повышенного риска развития крапивницы – генотип rs20541*Arg/Gln полиморфного локуса гена *IL13*.

Литература

1. Белоусова Т.А. Аллергодерматозы – болезни современной цивилизации // Русский медицинский журнал. 2013. № 27. С. 1538.
2. He J.Q., Chan-Yeung M., Becker A.B. et al. Genetic variants of the *IL13* and *IL4* genes and atopic diseases in at-risk children // Genes Immun. 2003. V. 4. P. 385–389.

3. Kawashima T., Noguchi E., Arinami T. et al. Linkage and association of an interleukin 4 gene polymorphism with atopic dermatitis in Japanese families // *J. Med. Genet.* 1998. V. 35. P. 502–504.
4. Kayserova J., Sismova K., Zentsova-Jaresova I. et al. A Prospective Study in Children with a Severe Form of Atopic Dermatitis: Clinical Outcome in Relation to Cytokine Gene Polymorphisms // *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2012. V. 22, № 2. P. 92–101.
5. Brandt E., Sivaprasad U. Th2 Cytokines and Atopic Dermatitis // *J. Clin. Cell. Immunol.* 2011. V. 2, № 3. P. 1–25.
6. Basehore M.J., Howard T.D., Lange L.A. et al. A comprehensive evaluation of *IL4* variants in ethnically diverse populations: association of total serum IgE levels and asthma in white subjects // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2004. V. 114, № 1. P. 80–87.
7. Chang Y.T., Lee W.R., Yu C.W. et al. No association of cytokine gene polymorphisms in Chinese patients with atopic dermatitis // *Clin. Exp. Dermatol.* 2006. V. 31. P. 419–423.
8. Shin H.D., Park B.L., Kim L.H. et al. Interleukin-10 haplotype associated with total serum IgE in atopic dermatitis patients // *Allergy.* 2005. V. 60. P. 1146.
9. Tanaka K., Sugiura H., Uehara M. et al. Lack of association between atopic eczema and the genetic variants of interleukin-4 and the interleukin-4 receptor α chain gene: heterogeneity of genetic backgrounds on immunoglobulin E production in atopic eczema patients // *Clin. Exp. Allergy.* 2001. V. 31, № 10. P. 1522–1527.
10. Oiso N., Fukai K., Ishii M. Interleukin 4 receptor alpha chain polymorphism Gln551Arg is associated with adult atopic dermatitis in Japan // *Br. J. Dermatol.* 2000. V. 142. P. 1003–1006.
11. Stavric K., Peova S., Trajkov D., Spiroski M. Gene polymorphisms of 22 cytokines in macedonian children with atopic dermatitis // *Iran J. Allergy Asthma Immunol.* 2012. V. 11, № 1. P. 37–50.
12. Castro J., Telleria J.J., Linares P. et al. Increased *TNFA*2*, but not *TNFB*1*, allele frequency in Spanish atopic patients // *J. Invest. Allergol. Clin. Immunol.* 2000. V. 10. P. 149–154.

ЭКЗОМНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ ПАЦИЕНТОВ С НАСЛЕДСТВЕННЫМИ И МУЛЬТИФАКТОРНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

А.С. Глотов^{1,2}, О.С. Глотов^{1,2,3}, Ю.А. Барбитов^{1,4}, Е.А. Серебрякова^{1,2}, А.В. Предеус⁴, Д.Е. Полев¹, А.Р. Шувалова¹, Ю.А. Насыхова^{1,2}, А.М. Сарана^{1,3}, С.Г. Щербак^{1,3}, В.С. Баранов^{1,2}

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург

² НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, г. Санкт-Петербург

³ Городская больница № 40, г. Санкт-Петербург

⁴ Институт биоинформатики, г. Санкт-Петербург

После триумфальной расшифровки генома человека, запуска различных популяционных геномных и экзомных проектов все большее значение приобретает клиническая интерпретация данных секвенирования. Несмотря на наличие большого числа различных пакетов программ, сервисов, создание крупных геномных биобанков и развитие программ переподготовки врачей, эта проблема остается достаточно острой и сегодня.

Нами предложен собственный алгоритм анализа экзомных данных. Он включает: документированный сбор биологических образцов в соответствии с современными требованиями и СОПами, разработанными в Биобанке СПбГУ совместно с ГБ 40 и НИИАГиР им. Д.О. Отта; проведение секвенирования ДНК-проб с использованием различных платформ (HiSeq4000, HiSeq2500, MiSeq) и наборов для подготовки библиотек; биоинформатический протокол обработки данных и клинико-генетический анализ результатов секвенирования с последующим включением исследуемого экзома в отечественную базу данных экзомного секвенирования.

Алгоритм основан на результатах секвенирования более 460 образцов пациентов с редкими (монокгенные формы сахарного диабета, факатомозы, наследственные нарушения соединительной ткани, наследственные нарушения обмена веществ и другие орфанные заболевания) и мультифакторными болезнями (ожирение, сахарный диабет 2-го расстройства аутистического спектра), а также контрольной популяционной группы.

Для исследования спектра мутаций разработан уникальный биоинформатический протокол: набор получаемых с прибора сиквенсных прочтений обра-

батывается при помощи различных программ для достижения наибольшего качества определения вариантов; затем для ранжирования вариантов в vcf-файле используется разработанная метрика, учитывающая следующие данные: а) какой тип у данной замены (синонимичная, несинонимичная, нонсенс и др.); б) какой эффект данной замены предсказывается программами PROVEAN, SIFT и Polyphen2; в) какая частота встречаемости данной замены в базах «1 000 геномов», ExAC (Exome Aggregation Consortium), ESP6500; г) какая частота встречаемости данной замены в исследуемой когорте. Наибольшие значения данная метрика принимает для редких вариантов, имеющих наибольшую вероятность loss-of-function фенотипа, наименьшие – для частых синонимичных замен. Метрика разработана в соответствии с рекомендациями Американского общества медицинских генетиков (ACMG). Клинико-генетический анализ вариантов осуществляется при помощи специально разработанного веб-интерфейса (<http://genome.ifmo.ru/snviewer>).

Корректная биоинформатическая фильтрация и последующая клиническая интерпретация данных базируются на обработке «эталонных» отечественных референсных экзомов и базы данных мутаций по наследственным и мультифакторным заболеваниям. В СПбГУ нами реализован подход, позволяющий формировать референсную базу данных экзомного секвенирования («экзомов России»). Применяемая биоинформатическая методика анализа данных позволяет эффективно производить унифицированную обработку данных, полученных в разных лабораториях и центрах Российской Федерации, с использованием вычислительных мощностей Научного парка СПбГУ.

Мы полагаем, что создание на базе СПбГУ отечественной базы экзомных данных с клиническим описанием станет важным шагом в развитии здравоохранения России.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-50-00069 и выполнена на базе РЦ «Центр Биобанк» Научного парка СПбГУ.

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК В ВОЗНИКНОВЕНИИ И РАЗВИТИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

М.В. Голубенко

*НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск
НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, г. Кемерово*

Сердечно-сосудистые заболевания, входящие в сердечно-сосудистый континуум (ССК), занимают одно из первых мест в структуре заболеваемости и смертности населения. Несмотря на значительное число полногеномных ассоциативных исследований (GWAS), выявленные эффекты отдельных SNP могут объяснить лишь малую долю наследуемости сердечно-сосудистых заболеваний. Одним из локусов, задействованных в формировании предрасположенности к развитию ССК, может быть митохондриальный геном. Митохондриальная ДНК (мтДНК), в отличие от хромосом, расположена за пределами ядра, имеет высокое число копий в клетке, реплицируется в течение всего клеточного цикла (а не только в S-фазе), имеет более высокий темп мутирования и наследуется без рекомбинации. Возможно, из-за этих особенностей полиморфизм мтДНК обычно не рассматривается в исследованиях GWAS. В то время как в ядерных генах для каждого биаллельного SNP возможны три варианта генотипа, а различные SNP на одной хромосоме могут быть сцеплены или не сцеплены друг с другом, в мтДНК все полиморфные сайты изначально находятся в полном неравновесии по сцеплению, и генотип всегда «гомозиготен». Таким образом, анализ ассоциаций мтДНК с заболеваниями не может быть проведен одновременно с анализом данных GWAS и требует несколько отличающегося набора методов. Переход методологии исследований к секвенированию полных экзомов не изменил ситуации: наборы для обогащения и подготовки экзомных ДНК-библиотек не содержат проб для мтДНК [1].

При простом дизайне ассоциативного исследования случай–контроль проводят сравнение частот генотипов между анализируемыми выборками. В случае мтДНК обычно рассматривают наиболее распространенные в популяции гаплогруппы или полиморфизм в отдельных гипервариабельных сайтах. Зачастую результаты, полученные одними исследователями, не повторяются в других выборках и популяциях. При этом как со стороны фенотипа, так и со стороны генотипа в таких исследованиях имеет место «скрытая изменчивость»: так, самая частая у европейцев гаплогруппа H (около 40% в популяции) состоит из десятков субгаплогрупп; вторая по распространенности гаплогруппа U тоже очень разнообразна, и степень дивергенции ее субгаплогрупп U1–U9 выше, чем для H-субгаплогрупп. В каждой из таких линий в процессе микроэволюции сложился свой уникальный набор замен в мтДНК, в том числе миссенс-полиморфизмов, замен в генах

rРНК, тРНК и в регуляторных участках. Фенотипическая гетерогенность выборок может быть еще выше: «коронарный атеросклероз», «инфаркт миокарда», «артериальная гипертензия» – это сборные фенотипы, генетическая основа которых неоднородна. Неудивительно, что при таком дизайне можно получить значимые различия лишь в случае довольно сильного эффекта. Однако более детальное генотипирование (вплоть до полной последовательности мтДНК), учет сцепления и гомоплазии (повторных мутаций на разном генетическом фоне) могут помочь выявить более слабые эффекты. В отношении фенотипа, несмотря на его «бесконечность», нужно также стремиться к большей однородности выборок. Одним из путей решения проблемы может быть выделение подгрупп пациентов с определенным характером течения заболевания в пределах ССК, сравнение «контрастных» по фенотипу подвыборок в пределах одного заболевания. Для изучения подверженности болезни лучше использовать не только популяционный контроль (большинство в популяции имеют предрасположенность к ССК), но и группы индивидов, здоровых в пожилом возрасте, а также долгожителей.

Используя подобный подход, мы выявили в наших исследованиях неблагоприятный эффект гаплогруппы H1 в отношении ранней смерти индивида от сердечно-сосудистых заболеваний и риска развития повторных инфарктов миокарда (ишемических инсультов), прогрессирования сердечной недостаточности) в течение года после первого инфаркта миокарда [2]. Гаплогруппа H (с исключением H1) чаще встречалась в группе пациентов с ишемической кардиомиопатией, по сравнению с популяционной выборкой [3]. Гаплогруппа J была более распространена у пожилых людей без клинически выраженного атеросклероза сонных артерий, по сравнению с пациентами, имевшими показания для удаления каротидных бляшек. В группе больных с сочетанием нескольких болезней (гипертензия, ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет 2-го типа, ожирение) обнаружено разнонаправленное изменение частот гаплогрупп J и T в зависимости от наличия инфаркта миокарда: гаплогруппа T встречалась главным образом в группе с инфарктом, а гаплогруппа J – в группе без инфаркта. Показано, что полиморфизм мтДНК ассоциирован также с изменчивостью количественных признаков: гаплогруппа H и вариант 16519C связаны с индексом массы тела у больных с острым коронарным синдромом, а у пациентов с наличием сахарного диабета 2-го типа гаплогруппа H была ас-

социирована с более высокими значениями глюкозы в крови натощак; выявлена ассоциация гаплогруппы U с толщиной комплекса интима-медиа сонных артерий, U5 – со сниженной фракцией выброса левого желудочка, найдена ассоциация гаплогруппы H с уровнем холестерина и со значениями глюкозы в крови индивидов при поступлении в стационар [4].

Известно, что гаплогруппы H и J различаются по эффективности окислительного фосфорилирования и продукции активных форм кислорода (АФК): H характеризуется более высокими значениями этих показателей, а J – более низкими [5, 6]. Полиморфизм T16189C может влиять на связывание белка mtSSB и, следовательно, на число копий мтДНК [7]. Так как окислительный стресс является одним из важных факторов в развитии атеросклероза, функциональные различия между гаплогруппами могут вносить свой вклад в прогрессирование данного заболевания и его осложнений. Однако механизм влияния генотипа мтДНК на фенотип сердечно-сосудистой системы может быть более сложным. Функция митохондрий жизненно важна для клетки, и снижение продукции АТФ (или повышение АФК) может приводить к активации ядерных генов, кодирующих белки соответствующих биохимических путей, с целью компенсации недостающей функции. В основе такого взаимодействия митохондриального и ядерного геномов могут лежать эпигенетические механизмы. Так, в последние годы появились данные об ассоциации некоторых гаплогрупп мтДНК с уровнем экспрессии и (или) метилирования некоторых генов, важных для функционирования митохондрий [6]. Исследования на клеточных линиях и модельных животных показали, что взаимное «соответствие» ядерного и митохондриального геномов имеет значение для выживаемости клеток, приживаемости стволовых клеток при трансплантации и даже для устойчивости к сердечно-сосудистым заболеваниям [8].

Таким образом, роль полиморфизма мтДНК в возникновении и развитии сердечно-сосудистых

заболеваний не ограничивается влиянием на функцию дыхательной цепи, а эффект полиморфизма мтДНК на уровне фенотипа проявляется чаще не в предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям в целом, а в риске развития осложнений и коморбидных фенотипов в пределах синтропии ССК.

Работа проведена при поддержке гранта РФФИ № 16-04-01481-А.

Литература

1. *Pesole G., Allen J.F., Lane N. et al.* The neglected genome // *EMBO reports*. 2012. V. 13, № 6. P. 473.
2. *Голубенко М.В., Салахов Р.Р., Макеева О.А. и др.* Ассоциации полиморфизма митохондриальной ДНК с инфарктом миокарда и прогностически значимыми признаками атеросклероза // *Молекулярная биология*. 2015. Т. 49, № 6. С. 968–976.
3. *Жейкова Т.В.* Генетическая основа регуляции окислительного стресса: связь с продолжительностью жизни и ишемической болезнью сердца: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Томск, 2013. 24 с.
4. *Салахов Р.Р., Макеева О.А., Кашталап В.В. и др.* Ассоциации полиморфизма митохондриального генома с количественными признаками при инфаркте миокарда и сахарном диабете // *Медицинская генетика*. 2015. Т. 14, № 10. С. 21–24.
5. *Martinez-Redondo D., Marcellino A., Casajus J.A. et al.* Human mitochondrial haplogroup H: the highest VO₂max consumer—is it a paradox? // *Mitochondrion*. 2010. V. 10. P. 102–107.
6. *Kenney M.C., Chwa M., Atilano S. et al.* Inherited mitochondrial DNA variants can affect complement, inflammation and apoptosis pathways: insights into mitochondrial-nuclear interactions // *Human Molecular Genetics*. 2014. V. 23, № 13. P. 3537–3551.
7. *Park K.S., Chan J.C., Chuang L.M. et al.* Study Group of Molecular Diabetology in Asia. 2008. A mitochondrial DNA variant at position 16189 is associated with type 2 diabetes mellitus in Asians // *Diabetologia*. 2008. V. 51. P. 602–608.
8. *Dunham-Snary K.J., Ballinger S.W.* Mitochondrial-nuclear DNA mismatch matters // *Science*. 2015. V. 349. P. 1449–1450.

НЕБЛАГОПРИЯТНЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНОВ – ФАКТОРОВ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ ПРИ НЕОБСТРУКТИВНОМ КОРОНАРНОМ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ

С.Б. Гомбоева¹, Ю.В. Лугачева¹, И.В. Кулагина¹, В.В. Рябов^{1, 2, 3}

¹ НИИ кардиологии Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

² Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск

³ Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск

Частота встречаемости необструктивного атеросклероза коронарных артерий (НОКА, т.е. выявление у пациентов интактных коронарных артерий или стеноза < 50%) при остром коронарном синдроме (ОКС) составляет 6%. Данный синдром представляет гетерогенную группу заболеваний [1–3]. Одна из причин развития ОКС при НОКА – это врожденные тромбофилии. Известен ряд полиморфных вариантов генов системы свертывания крови, которые предрасполагают к развитию тромбозов [1, 2]. По результатам ранее проведенных исследований среди пациентов, перенесших острый инфаркт миокарда при НОКА, на долю носителей неблаго-

приятных аллелей по генам *F2* и *F5* приходится 7,3 и 12% соответственно. Частота носительства сочетания неблагоприятных аллельных вариантов генов факторов системы гемостаза в данной выборке пациентов малоизучена. Известно, что встречаемость этих генотипов в три раза чаще при НОКА, чем при выраженном коронарном атеросклерозе [4, 5]. Существуют различные диагностические генетические панели для выявления генотипов генов, предрасполагающих к развитию тромбофилий. Вопрос о том, насколько эти генетические маркеры влияют на развитие тромбозов при ОКС у пациентов с НОКА, изучен недостаточно [1–5].

Цель исследования – изучить частоту носительства неблагоприятных в отношении риска развития тромбофилии аллельных вариантов генов факторов системы гемостаза у пациентов с ОКС при НОКА.

Материал и методы

Материал для исследования был собран в рамках нерандомизированного, открытого, контролируемого исследования (зарегистрировано на Clinicaltrial.gov: NCT02655718), выполненного в 2015–2016 гг. в отделении неотложной кардиологии. В выборку включены пациенты старше 18 лет с ОКС при НОКА, подтвержденным инвазивной коронарной ангиографией. Лица, которым ранее проводилась реваскуляризация коронарных артерий, были исключены из исследования.

Всего с диагнозом ОКС были госпитализированы 913 человек, из них 44 (4,8%) пациента с НОКА. Для 29 пациентов на базе клинико-диагностической лаборатории НИИ кардиологии Томского НИМЦ был проведен анализ генотипов по 8 полиморфным вариантам генов системы гемостаза: *F2* (20210 G>A), *F5* (1691 G>A), *F7* (10976G>A), *F13* (163 G>T), *F1* (-455G>A), *GP Ia-IIa* (807C>T), *GP IIb-IIIa* (1565 T>C), *PAI-I* (-675 5G>4G), для которых ранее была показана ассоциация с риском развития тромбофилии. Определение генотипов проводили с использованием методов полимеразной цепной реакции и применением набора реагентов производства ООО «ДНК-Технология» (Россия).

Статистическая обработка результатов выполнена при помощи программы Statistica 10.0.

Результаты

Из числа поступивших в клинику пациентов с диагнозом ОКС у 44 (4,8%) выявлен НОКА, в том числе 19 мужчин (66%) и 25 (57%) женщин, средний возраст больных составил 54 ± 11 лет.

На основании изучения 8 полиморфных вариантов 8 генов гемостаза было установлено, что 28 (96,6%) индивидов с НОКА имели как минимум один гомозиготный или гетерозиготный по неблагоприятным аллелям генотип генов факторов системы гемостаза. Гомозиготный генотип по неблагоприятным аллельным вариантам был зарегистрирован у 13 (44,8%) больных по полиморфным вариантам следующих генов: *FXIII*, *GP Ia-IIa*, *GP IIb-IIIa*, *PAI-1*, в том числе у одного пациента было выявлено два неблагоприятных гомозиготных генотипа по вариантам генов *GP IIb-IIIa* и *PAI-1*.

У одного (3,4%) пациента зарегистрировано носительство неблагоприятных гетерозиготных генотипов по пяти изученным вариантам, предрасполагающим к развитию тромбофилии; у семи (24,1%) – гетерозиготные генотипы по 4 SNP, у десяти (34,5%) – гетерозиготные генотипы по 3 SNP, у семи (24,1%) – по 2 SNP, у двух (6,9%) – по 2 SNP; только у двух (6,9%) индивидов не обнаружено носительства неблагоприятных аллелей в гетерозиготном состоянии.

Частота регистрации гомозиготных генотипов по аллелям, предрасполагающим к тромбозам, для всех изученных полиморфных вариантов в обследованной выборке находится в границах, показанных для европеоидной популяции, а частота регистрации гетерозигот по вариантам генов факторов *FV*, *FVII*, *FXIII*, *F1* превышает оценки распространенности гетерозигот у европеоидов (таблица).

Распределение частот генотипов генов полиорфных вариантов генов факторов свертывания крови у пациентов с ОКС и НОКА и у европеоидов*

№ п/п	Ген	SNP	Генотип	Частота в исследуемой группе		Частота у европеоидов	
				N	%	Среднее значение	Min–max
1	<i>F2</i>	rs1799963, 20210 G>A	G/G	28	0,97	98,4	0,91–0,984
			G/A	1	0,03	0,016	0–0,056
			A/A	0	0	0	0
2	<i>F5</i>	rs6025, 1691 G>A	G/G	27	0,93	0,978	0,978–0,979
			G/A	2	0,07	0,020	0,020–0,021
			A/A	0	0	0,02	0–0,02
3	<i>F7</i>	rs6046, 10976 G>A	G/G	15	0,52	0,795	0,664–0,890
			G/A	14	0,48	0,187	0,110–0,290
			A/A	0	0	0,018	0–0,047
4	<i>F13</i>	rs5985, 163 G>T	G/G	16	0,55	0,583	0,562–0,729
			G/T	12	0,41	0,352	0,208–0,391
			T/T	1	0,03	0,066	0,010–0,062
5	<i>F1</i>	rs1800790, –455 G>A	G/G	12	0,41	0,638	0,650–0,708
			G/A	17	0,59	0,292	0,260–0,314
			A/A	0	0	0,070	0,012–0,099
6	<i>GP Ia-IIa</i>	rs1126643, 807 C>T	C/C	11	0,38	0,330	0,355–0,444
			C/T	17	0,59	0,535	0,444–0,523
			T/T	1	0,03	0,135	0,111–0,128
7	<i>GP IIb-IIIa</i>	rs5918, 1565 T>C	T/T	22	0,76	0,755	0,760–0,788
			T/C	5	0,17	0,225	0,192–0,225
			C/C	2	0,07	0,020	0,010–0,021
8	<i>PAI-I</i>	rs1799889, –675 5G>4G	5G/5G	7	0,25	0,206**	
			5G/4G	11	0,38	0,461	
			4G/4G	11	0,38	0,333	

* сведения взяты из базы данных Ensembl [7]; ** данные из работы [6].

Для гена *PAI-1* в базе Ensembl нет информации по распространенности аллельных вариантов. В то же время доступны данные по распространенности аллелей 5G и 4G полиморфного варианта гена *PAI-1* у здоровых подростков Алтайского края. Полученные в настоящем исследовании данные по частоте регистрации генотипов несколько отличаются от данных, приведенных в работе [6]. В частности, у пациентов с НОКА реже регистрируются гетерозиготные генотипы 5G/4G и несколько чаще гомозиготы как по аллелю 5G, так и по аллелю 4G.

Выводы

Среди больных с ОКС 4,8% составляют пациенты с НОКА, что соответствует литературным данным. Частота носительства неблагоприятных в отношении риска развития тромбофилии аллельных вариантов генов факторов системы свертывания крови у пациентов с ОКС и НОКА составила 96,6%.

ВКЛАД ГЕНОВ ФИБРОГЕНЕЗА В ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЭХОКАРДИОГРАФИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ МИОКАРДА У БОЛЬНЫХ ИБС В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ

И.А. Гончарова^{1,2}, Т.Б. Печерина², А.В. Марков¹, В.В. Кашталап²,
Н.В. Тарасенко¹, О.Л. Барбараш², В.П. Пузырёв¹

¹ НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

² НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, г. Кемерово

В настоящее время признано, что основным предиктором благоприятного прогноза течения ишемической болезни сердца (ИБС) является функциональное состояние левого желудочка (ЛЖ), определяемое, в том числе, наличием структурно-геометрических изменений – ремоделирования сердца, которое рассматривается как основная причина дисфункции левого желудочка и сердечной недостаточности. Существуют значительные индивидуальные различия в степени выраженности постинфарктного ремоделирования; например, дилатация ЛЖ развивается только у 42–46% больных, перенесших инфаркт миокарда (ИМ). Диагностическими критериями ремоделирования сердца являются такие эхокардиографические параметры, как конечный систолический и диастолический объем, конечный систолический и диастолический размер, фракция выброса, толщина задней стенки левого желудочка, толщина межжелудочковой перегородки. Известно, что основным механизмом, направленным на репарацию повреждений миокарда в постинфарктный период, является фиброгенез, где экстрацеллюлярный коллагеновый матрикс играет одну из центральных ролей. Прогрессирование фибротических изменений в конечном счете приводит к развитию сердечной недостаточности.

Цель настоящего исследования – оценить вклад полиморфных вариантов генов, вовлеченных в процессы фиброгенеза, изменчивость эхокардиографических параметров миокарда, характеризую-

Литература

1. *Pasupathy S., Air T., Dreyer R.P. et al.* Systematic Review of Patients Presenting With Suspected Myocardial Infarction and Nonobstructive Coronary Arteries // *Circulation*. 2015. № 131. P. 861–870.
2. *Pasupathy S., Tavella R., Beltrame J.F. et al.* The What, When, Who, Why, How and Where of Myocardial Infarction With Non-Obstructive Coronary Arteries (MINOCA) // *Circulation*. 2016. № 80. P. 11–16.
3. *Agewall S., John F., Reynolds H.R. et al.* ESC working group position paper on myocardial infarction with non-obstructive coronary arteries // *European Heart Journal*. 2017. № 38 (3). P. 143–153.
4. *Mansourati J., Da Costa A., Munier S. et al.* Prevalence of factor V Leiden in patients with myocardial infarction and normal coronary angiography // *Thromb Haemost*. 2000. № 83. P. 822–825.
5. *Van De Water N.S., French J.K., Lund M. et al.* Prevalence of factor V Leiden and prothrombin variant g20210a in patients age <50 years with no significant stenoses at angiography three to four weeks after myocardial infarction // *J. Am. Coll. Cardiol*. 2000. № 36. P. 717–722.
6. *Момот А.П.* Проблема тромбофилии в клинической практике // *Российский журнал детской гематологии и онкологии*. 2015. Т. 2, № 1. С. 36–48.
7. <http://www.ensembl.org/index.html>

щих ремоделирование сердца у больных ИБС с различной тяжестью течения заболевания.

Материалы и методы

В исследование включены больные ИБС с атеросклерозом коронарных артерий (404 человека), которым были проведены эхокардиографическое исследование и последующее аортокоронарное шунтирование, выполненное на базе Кемеровского НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний. В зависимости от особенностей течения атеросклероза было выделено две подгруппы: с осложненным (неблагоприятным) течением, а именно с ранее перенесенным ИМ (188 человек: 159 мужчин и 29 женщин в возрасте от 54 до 64 лет, средний возраст 59 лет); с неосложненным течением заболевания (216 человек: 157 мужчин и 59 женщин в возрасте от 56 до 67 лет, средний возраст 61 год, не имеющих в анамнезе ранее перенесенных ИМ).

Для выполнения настоящего исследования было привлечено 48 однонуклеотидных маркеров (SNP), локализованных в генах, для которых показано изменение уровня экспрессии при заболеваниях, связанных с фиброзом различных органов, а также в генах, ассоциированных с фиброзом миокарда, атеросклерозом и стабильностью атеросклеротической бляшки, эндотелиальной дисфункцией, с сахарным диабетом 1-го и 2-го типа как заболеванием, характеризующимся фибротическими изменениями почек

при диабетической нефропатии. Исследования выполнены на базе Центра коллективного пользования научно-исследовательским оборудованием и экспериментальным биологическим материалом «Медицинская геномика» НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

Статистическую обработку данных исследования осуществляли с помощью программ Statistica версии 8.0 (StatSoft, Inc., США) и в среде R с применением пакетов Stats и Genetics. Для оценки ассоциаций генотипов с количественными признаками проведено сравнение средних значений таких эхокардиографических параметров, как конечный систолический и диастолический объем, конечный систолический и диастолический размер, фракция выброса, толщина задней стенки левого желудочка, толщина межжелудочковой перегородки, масса миокарда левого желудочка и индекс массы миокарда левого желудочка у носителей различных генотипов по изученным SNP. Сравнение выполнено в каждой из подгрупп больных ИБС с инфарктами и без инфарктов миокарда в анамнезе. Сравнение проведено с помощью непараметрического рангового критерия Краскела–Уоллиса. Статистические гипотезы при сравнительном анализе данных проверяли на 1%-ном уровне значимости.

Результаты

Было показано, что генетическая компонента, определяющая изменчивость эхокардиографических параметров миокарда, различается в зависимости от особенностей течения ИБС. У больных с неосложненным течением заболевания и отсутствием ИМ в анамнезе выявлены ассоциации SNP гена *ADAMDEC1* (rs3765124) с толщиной межжелудочковой перегородки ($p = 0,0001$), толщиной задней стенки левого желудочка ($p = 0,001$), массой миокарда левого желудочка ($p = 0,0001$) и индексом массы миокарда левого желудочка ($p = 0,001$), а также rs7023329 гена *MTAP* с толщиной межжелудочковой перегородки ($p = 0,008$).

У больных, перенесших один или более ИМ, показано, что полиморфный вариант rs1143674 гена

ITGA4 оказывает влияние на изменчивость такого показателя, как толщина задней стенки левого желудочка ($p = 0,009$). С остальными изучаемыми параметрами не было выявлено ассоциаций при 1%-ном уровне значимости.

Гены, показавшие ассоциации с эхокардиографическими параметрами миокарда, принимают участие в процессах фиброгенеза. Так, ген АДАМ-подобного дицеклина *ADAMDEC1* регулирует активность металлопротеаз, интегрин альфа 4 (*ITGA4*) регулирует метаболизм экстрацеллюлярного матрикса, а ген метилтиоаденозин фосфорилазы (*MTAP*) влияет на синтез коллагена через регуляцию уровня CD4 + Т-лимфоцитов.

Полиморфный вариант гена *ADAMDEC1* (rs3765124) показал ассоциацию с изменчивостью наибольшего числа эхокардиографических параметров миокарда. Это, вероятно, связано с тем, что одной из молекулярных функций белка *ADAMDEC1* является регуляция функционирования металлопротеаз, определяющая реактивность внеклеточного матрикса миокарда, что, как известно, влияет на интенсивность изменений структурно-функциональных характеристик сердца, приводящих к ремоделированию.

Таким образом, в результате выполнения настоящего исследования показано, что на изменчивость эхокардиографических параметров миокарда, характеризующих ремоделирование сердца у больных ИБС, оказывает влияние полиморфизм генов, принимающих участие в процессах фиброгенеза через метаболизм экстрацеллюлярного матрикса (*ADAMDEC1*, *ITGA4*) и коллагена (*MTAP*). В зависимости от тяжести течения ИБС генетическая компонента, определяющая изменчивость эхокардиографических параметров, имеет свои особенности: у больных с неосложненным течением заболевания с эхокардиографическими параметрами ассоциированы гены *ADAMDEC1* и *MTAP*; у больных с ИМ – ген *ITGA4*.

Исследование выполнено при частичной поддержке гранта РФФИ (договор № 20 16-04-00840\16).

РАССТРОЙСТВА ПСИХИЧЕСКОГО ЗДОРОВЬЯ МНОГОФАКТОРНОЙ ПРИРОДЫ В ПРОБИОТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ АДАПТАЦИИ

Е.В. Гуткевич^{1, 2}, Е.А. Гуткевич³

¹ НИИ психического здоровья Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

² Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск

³ Сибирский федеральный клинический научный центр ФМБА России, г. Северск

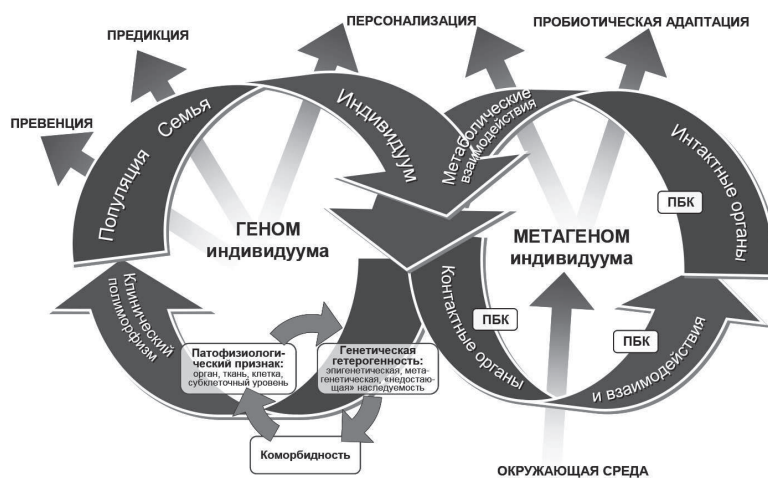
Актуальные исследования показали связь специфических нарушений микробиома кишечника с психиатрической патологией, что получило понятие «ось кишечник–мозг» [1–3], а пробиотики обладают широким спектром свойств и способны благоприятно воздействовать на физиологические функции, биохимические и поведенческие реакции организма через оптимизацию его микробиологического статуса [4], который в современных терминах является частью метагенома,

т.е. совокупности ДНК самых различных микроорганизмов, обитающих в одной среде. Реализуются проекты «Микробиом человека» (Human Microbiome Project) и MetaFas, проводятся исследования по нутригеномике. Так, А.Н. Кучер и соавт. [5] обосновывают значимость нутриентов в развитии сложно наследуемых состояний здоровья, комплексов болезней.

«Пробиотическая модель адаптации», рассчитанная на основе эукариотических ДНК и РНК чело-

века (эуДНК и эуРНК), ДНК и РНК пробиотических микроорганизмов (проДНК и проРНК), заселяющих определенные органы организма человека, уточняет описанный Г. Селье «синдром биологического стресса» [6]. В отличие от общего адаптационного синдрома, объектом которого являются собственные органы и ткани человека, объектом пробиотической модели адаптации является биологическая система – макроорганизм (эукариотическая система) и пробиотические микроорганизмы (прокариотическая система), синергетически взаимодействующие друг с другом. В модели используются значения веса ДНК в качестве количественных параметров, характеризующих «обуславливающий фактор», определяющий чувствительность организма к стрессу; эуДНК интактных органов (органы движения, нервная система, органы кровообращения и иммунной системы, железы внутренней секреции) обеспечивает кататоксический или специфический ответ организма и характеризует «глубокую адаптационную энергию»; эуДНК контактных органов (кожа, органы систем пищеварения, дыхания и мочеполовой системы) в совокупности с проДНК микроорганизмов обеспечивают синтоксический или неспецифический ответ организма и характеризуют «поверхностную адаптационную энергию». Веса РНК использованы в качестве количественных параметров гомеостаза или «силы устойчивости» организма.

Исследования ассоциаций количественных характеристик микробиоты лиц разного возраста и с различными заболеваниями [7], распространенности соматических заболеваний (в том числе заболеваний желудочно-кишечного тракта) при шизофрении [8], пищевого поведения и функционального питания лиц с психическими расстройствами (невротические, аффективные и шизофренические) [9] позволили предположить существенную роль микробиоты кишечника в формировании предрасположенности к сложным заболеваниям и предложить модель расстройств многофакторной природы в рамках биологической парадигмы (рисунок). Модель включает несколько уровней (популяционный, семейный, организменный – индивидуальный), на которых проявляется клинический (нозологический) полиморфизм многофакторных заболеваний, обусловленный генетической гетерогенностью, связанной с различными вариантами наследования. На патофизиологическом уровне, включающем органнй, тканевый и клеточный (контактные и интактные органы), происходят взаимодействия генома индивидуума с метагеномом (иммунное, питательное, выделительное, синтетическое, дезинтоксикационное) с участием микробиома индивидуума и образованием патологических бактериальных комплексов.



Схематическое представление модели расстройств многофакторной природы в рамках биологической парадигмы

Практическое применение параметров пробиотической модели адаптации связано с дополнительной информацией о состоянии адаптационной системы обследуемого больного или здорового человека. Эти показатели позволяют объективно оценить необходимость подключения к терапии заболевания дополнительных фармакологических препаратов для усиления кататоксического ответа на стрессор, а для здорового человека – выбрать адекватные здоровьесберегающие технологии, и в дальнейшем могут стать основой для разработки персонализированных рекомендаций в сфере охраны психического здоровья.

Литература

1. Tillisch K. The effects of gut microbiota on CNS function in humans // *Gut Microbes*. 2014. V. 5 (3). P. 404–410.
2. Барыльник Ю.Б., Шульдяков А.А., Филиппова Н.В., Рамазанова К.Х. Микробиом кишечника человека и психическое здоровье: состояние проблемы // *Российский психиатрический журнал*. 2015. № 3. С. 30–41.
3. Козлов А.Е., Казанцев А.В., Вязовченко В.А. и др. Связь между микробиотой ЖКТ и психическим здоровьем человека // *Bulletin of Medical Internet Conferences*. 2015. V. 5, Is. 12. P. 1692. www.medconfer.com.
4. Power S.E., O'Toole P.W., Stanton C. et al. Intestinal microbiota, diet and health // *Br. J. Nutr.* 2014. V. 111. P. 387–402.
5. Кучер А.Н., Бабушкина Н.П. Многофакторные болезни: роль генетических факторов и нутриентов // *Молекулярная медицина*. 2016. Т. 14, № 6. С. 11–18.
6. Гуткевич Е.А., Гуткевич Е.В. Пробиотическая модель адаптации человека // *Нейрогуморальные механизмы регуляции висцеральных органов и систем в норме и при патологии: материалы научной конференции, посвященной 120-летию кафедры нормальной физиологии СибГМУ (ТМИ) и кафедры физиологии ТГУ. 22–23 октября 2009 г. Томск: СибГМУ, 2009. С. 163–167.*

7. Аминова А.И., Мацукатова Б.О., Топольскова И.А. и др. Использование продуктов питания с пробиотическими свойствами в лечении и профилактике нарушений микробиоценоза у детей // Вопросы диетологии. 2015. Т. 5, № 1. С. 40–43.
8. Gutkevich E., Semke A., Maltseva Y. Functional resource of the family as a biopsychosocial predictor of adaptive behaviour of schizophrenic patients // Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci. 2015. V. 265 (Suppl. 1). P. 102–103.
9. Гуткевич Е.В., Якутенок Л.П., Лебедева В.Ф. и др. Роль функционального питания в комплексной терапии психических расстройств // Актуальные вопросы психиатрии и наркологии: материалы XIII научной отчетной сессии ГУ НИИ психического здоровья ТНЦ СО РАМН, Томск, 4 октября 2007 г. Томск, 2007. С. 39–42.

ОДНОНУКЛЕОТИДНЫЕ ПОЛИМОРФИЗМЫ RS12170546 ГЕНА *PARVB*, RS16994849 ГЕНА *PLCB1*, RS78143315 ГЕНА *PDCD6IP* И ВНЕЗАПНАЯ СЕРДЕЧНАЯ СМЕРТЬ: ИССЛЕДОВАНИЕ СЛУЧАЙ–КОНТРОЛЬ

А.А. Иванова¹, В.Н. Максимов^{1,3}, С.К. Малютин^{1,3},
С.В. Савченко^{3,4}, В.П. Новоселов^{3,4}, М.И. Воевода^{1,2}

¹ НИИ терапии и профилактической медицины, г. Новосибирск

² Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

³ Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Новосибирск

⁴ Новосибирское областное клиническое бюро судебно-медицинской экспертизы, г. Новосибирск

В ходе проведения собственного полногеномного ассоциативного исследования был выявлен список кандидатных молекулярно-генетических маркеров для внезапной сердечной смерти (ВСС). Исследование было проведено на платформе Illumina Omni1S с применением технологии анализа пулированных выборок. Каждая когорта, включенная в исследование, включала около 200 человек. В когорту ВСС включены 200 мужчин (из используемой в дальнейшем исследовании случай–контроль группы численностью 388 человек). В качестве контрольной группы была взята ДНК участников проекта HAPIEE соответствующего пола (Health, Alcohol and Psychosocial factors in Eastern Europe). После проведения аллелотипирования был выявлен список молекулярно-генетических маркеров, которые значимо отличались по частотам между группой ВСС и контрольной группой [1]. Выявленные таким способом однонуклеотидные полиморфные варианты генов требуют дальнейшей проверки в исследовании дизайна случай–контроль с применением рутинных молекулярно-генетических методик для подтверждения их ассоциации с ВСС, так как существует вероятность выявления в ходе полногеномных ассоциативных исследований ложноположительных ассоциаций с молекулярно-генетическими маркерами.

Цель данного исследования – проверка ассоциации с ВСС в исследовании дизайна случай–контроль некоторых молекулярно-генетических маркеров ВСС, выявленных в собственном полногеномном ассоциативном исследовании.

Материалы и методы

Группа ВСС сформирована с использованием критериев внезапной сердечной смерти ВОЗ и Европейского общества кардиологов. В группу включены 388 внезапно умерших на территории Октябрьского района города Новосибирска человека (средний возраст составил 52,9 ± 9,2 лет, мужчины – 77,2%, женщины – 22,8%). Основные диагнозы посмертных судебно-медицинских заключений: острая недостаточность кровообращения и острая коронарная недостаточность. Группа контроля сформирована из

банка ДНК международных исследований HAPIEE и MONICA (Multinational MONItoring of trends and determinants in CArdiovascular disease). В нее включены 387 жителей того же района города соответствующего пола и возраста (средний возраст 52,4 ± 8,8 лет, мужчины – 62,3%, женщины – 37,7%). ДНК выделена методом фенолхлороформной экстракции из ткани миокарда в группе ВСС и венозной крови в контрольной группе. Генотипирование по выбранным полиморфизмам rs12170546 гена *PARVB*, rs16994849 гена *PLCB1*, rs78143315 гена *PDCD6IP* выполнено методом ПЦР с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов по оригинальным методикам. Статистическая обработка полученных результатов осуществлена в программном обеспечении SPSS 16.0 с использованием современных методов статистической обработки.

Результаты и обсуждение

Наблюдаемое распределение частоты генотипов полиморфизмов rs12170546 гена *PARVB*, rs16994849 гена *PLCB1*, rs78143315 гена *PDCD6IP* соответствовало ожидаемым согласно равновесию Харди–Вайнберга ($\chi^2 = 0,14; 1,54; 0,08$ соответственно).

Не выявлено статистически значимых различий между группой ВСС и контрольной группой по частотам генотипов rs78143315 гена *PDCD6IP*. В группе ВСС доля носителей генотипа ТТ полиморфизма rs12170546 гена *PARVB* статистически значимо больше, а генотипа ТС значимо меньше, чем в контрольной группе ($OR = 1,66; 95\% CI: 1,25–2,21; p = 0,001$ и $OR = 0,67; 95\% CI: 0,50–0,90; p = 0,009$ соответственно). При разделении групп по полу и возрасту данные различия сохраняются только в группе мужчин. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что генотип ТТ полиморфизма rs12170546 гена *PARVB* является генотипом риска ВСС, а генотип ТС обладает протективным эффектом в ее отношении. В группе до 50 лет частота носителей генотипа GG полиморфизма rs16994849 гена *PLCB1* статистически значимо выше, а генотипа AA ниже по сравнению с контрольной группой ($OR = 4,92; 95\% CI: 1,01–23,20; p = 0,032$ и $OR = 0,54; 95\% CI:$

0,31–0,93; $p = 0,029$ соответственно). Таким образом, генотип GG полиморфизма rs16994849 гена *PLCB1* является генотипом риска, а генотип AA обладает протективным эффектом в отношении ВСС для лиц младше 50 лет. В группе мужчин старше 50 лет доля носителей генотипа GG полиморфизма rs16994849 гена *PLCB1* меньше, чем в контрольной группе ($OR = 0,11$; 95% *CI*: 0,01–0,91; $p = 0,024$), что говорит о протективном эффекте данного генотипа в отношении ВСС в группе лиц старше 50 лет.

Ранее исследованные однонуклеотидные полиморфизмы генов не были изучены в отношении какой-либо патологии, тогда как другие полиморфизмы генов *PARVB* и *PLCB1* выявлены как связанные с той или иной сердечной-сосудистой патологией. Показана ассоциация для ряда полиморфных вариантов гена *PARVB* (parvin beta, 22q13.31) с развитием рестеноза после проведения чрескожного коронарного вмешательства [2]. Гиперэкспрессия гена *PLCB1* (phospholipase C beta 1, 20p12.3) вызывает развитие гипертрофии кардиомиоцитов. В некоторых крупных исследованиях показана связь вариантов гена *PLCB1* с уровнем аполипопротеина В, холестерина, липопротеинов высокой плотности в крови, индексом массы тела и инсультом. Ряд однонуклеотидных полиморфизмов гена *PLCB1* связывают с предрасположенностью к образованию аневризм коронарных артерий у пациентов с синдромом Кавасаки [3].

Заключение

Однонуклеотидный полиморфизм rs78143315 гена *PDCD6IP* не ассоциирован с ВСС в исследуемой группе. Генотип ТТ полиморфизма rs12170546 гена *PARVB* является генотипом риска ВСС, а генотип ТС обладает протективным эффектом в ее отношении, при этом большее развитие эффекта для обоих генотипов наблюдается в группе мужчин. Генотип GG по rs16994849 гена *PLCB1* является генотипом риска в группе лиц младше 50 лет и обладает протективным эффектом для лиц старше 50 лет. Генотип AA по rs16994849 гена *PLCB1* является протективным в отношении ВСС для лиц младше 50 лет.

Исследование выполнено при поддержке стипендии Правительства Новосибирской области.

Литература

1. Бабенко В.Н., Максимов В.Н., Кулакова Е.В. и др. Полногеномный анализ пулированных выборок ДНК когорт человека // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2014. Т. 18 (4-2). С. 847–855.
2. Verschuren J.J., Trompet S., Sampietro M.L. et al. Pathway analysis using genome-wide association study data for coronary restenosis—a potential role for the PARVB gene // PLoS ONE. 2013. V. 8, № 8. e70676.
3. Lin Y.J., Chang J.S., Liu X. et al. Genetic variants in *PLCB4/PLCB1* as susceptibility loci for coronary artery aneurysm formation in Kawasaki disease in Han Chinese in Taiwan // Sci. Rep. 2015. V. 5. P. 14762.

АНАЛИЗ УРОВНЯ МЕТИЛИРОВАНИЯ В ОБЛАСТИ ПРОМОТОРОВ ГЕНОВ *MIR10B* И *MIR21* ПРИ КЛИНИЧЕСКИ ВЫРАЖЕННОМ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ СОННЫХ АРТЕРИЙ

Ю.А. Королева¹, М.С. Назаренко^{1, 2, 3}, А.В. Марков¹, А.Н. Казанцев², О.Л. Барбараш²

¹ НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

² НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, г. Кемерово

³ Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск

Метилирование ДНК представляет собой эпигенетический механизм, который связан с различными биологическими процессами, включая регуляцию функциональной активности генов как в норме, так и при патологии. Регуляция активности генов микроРНК посредством метилирования ДНК более характерна, чем для белок-кодирующих генов: метилированию подвержено 11,5% генов микроРНК по сравнению с 1–2% генов, кодирующих белки [1]. Метилирование генов микроРНК активно изучается в основном при злокачественных новообразованиях. К таким микроРНК относятся, в том числе, miR-10b и miR-21 [2, 3]. В то же время данные об уровне метилирования промоторов этих генов в клетках артерий и лейкоцитах, а также его связь с риском развития клинически выраженного атеросклероза в научной литературе отсутствуют.

Цель исследования – оценить связь уровня метилирования в области промоторов генов *MIR10B* и *MIR21* в клетках атеросклеротических бляшек сонных артерий и лейкоцитах крови с факторами риска и патогенетически значимыми признаками клинически выраженного атеросклероза сонных артерий.

Материалы и методы

Выборка пациентов с клинически выраженным атеросклерозом сонных артерий составила 122 человека (107 мужчин и 15 женщин; средний возраст $63,4 \pm 7,9$ лет). В контрольную группу входили 135 относительно здоровых индивидов без клинических признаков поражения сердечно-сосудистой системы (103 мужчины и 20 женщин; средний возраст $64,2 \pm 12,5$ лет). Образцы сонных артерий, пораженных атеросклерозом, получены при каротидной эндартерэктомии. Лейкоциты периферической крови взяты от тех же пациентов до оперативного вмешательства, а также от индивидов контрольной группы.

Выделение ДНК из биологических образцов выполнено с использованием стандартного фенол-хлороформного метода. Последовательность праймеров для анализа уровня метилирования отдельных CpG-сайтов в области промотора *MIR10B* взята из публикации [2], а в области промотора *MIR21* – [4]. Анализ уровня метилирования CpG-сайтов, расположенных в области промоторов генов *MIR10B* и *MIR21*, проводился методом бисульфитного пиро-секвенирования на приборе PyroMark Q24 (Qiagen).

Сравнение уровней метилирования CpG-сайтов между группами исследования выполнено с использованием критериев Краскела–Уоллиса и Манна–Уитни. Для тестирования корреляционных отношений между измеряемыми величинами использовались коэффициенты корреляции Пирсона и Спирмена. Контроль ложноположительных результатов при множественном тестировании статистических гипотез был проведен по методу Бенджамини–Хохберга с использованием поправки к полученным значениям p . Статистически значимыми считались результаты на уровне значимости 0,05.

Результаты

Уровни метилирования в области промотора гена *MIR10B* (как отдельных CpG-сайтов, так и региона в целом), а также первого CpG-сайта гена *MIR21* в лейкоцитах крови пациентов с клинически выраженным атеросклерозом сонных артерий выше на 3% по сравнению с относительно здоровыми индивидами ($p < 0,05$). При анализе связи уровня метилирования анализируемых CpG-сайтов с факторами риска и патогенетически значимыми признаками заболевания уровень метилирования первых CpG-сайтов в области генов *MIR10B* и *MIR21* был выше на 2,4 и 2,2% соответственно в клетках пораженных атеросклерозом сонных артерий у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа, чем у таковых без данной патологии ($p < 0,05$). Аналогичная тенденция изменения уровня метилирования в области промотора гена *MIR21* обнаружена и в лейкоцитах. При сочетании атеросклероза сонных артерий и сахарного диабета, по сравнению с пациентами без сахарного диабета, уровень метилирования в первом CpG-сайте в лейкоцитах был 35% против 31,25%

($p < 0,05$). Кроме того, в лейкоцитах пациентов с клинически выраженным атеросклерозом сонных артерий уровни метилирования отдельных CpG-сайтов и в среднем по региону гена *MIR21* показали отрицательную корреляцию с уровнем общего холестерина в сыворотке крови ($r = -(0,30-0,43)$; $p < 0,05$).

Заключение

Уровень метилирования ДНК в области промоторов генов *MIR10B* и *MIR21* в лейкоцитах крови ассоциирован с риском развития атеросклероза сонных артерий. У пациентов с клинически выраженным атеросклерозом сонных артерий в клетках атеросклеротических бляшек выявлена связь уровня метилирования промоторов генов *MIR10B* и *MIR21* с сахарным диабетом 2-го типа, а в лейкоцитах уровень метилирования промотора гена *MIR21* ассоциирован с сахарным диабетом 2-го типа и уровнем холестерина в сыворотке.

Исследование выполнено за счет гранта РФФИ (проект № 16-15-10150).

Литература

1. Weber B., Stresmann C., Brueckner B. et al. Methylation of human microRNA genes in normal and neoplastic cells // *Cell Cycle*. 2007. V. 6, № 9. P. 1001–1005.
2. Kim K., Lee H.C., Park J.L. et al. Epigenetic regulation of microRNA-10b and targeting of oncogenic MAPRE1 in gastric cancer // *Epigenetics*. 2011. V. 6, № 6. P. 740–751.
3. Pfeffer S.R., Yang C.H., Pfeffer L.M. The Role of miR-21 in Cancer // *Drug. Dev. Res.* 2015. V. 76, № 6. P. 270–277.
4. Adams A.T., Kennedy N.A., Hansen R. et al. Two-stage genome-wide methylation profiling in childhood-onset Crohn's Disease implicates epigenetic alterations at the *VMP1/MIR21* and *HLA* loci // *Inflamm. Bowel Dis.* 2014. V. 20, № 10. P. 1784–1793.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МАРКЕРА RS738409 ГЕНА АДИПОНУТРИНА (*PNPLA3*) В ПОПУЛЯЦИИ ЯКУТОВ

Х.А. Куртанов, Н.И. Павлова, Н.П. Филиппова, Г.А. Апсолихова, В.В. Додохов, Н.А. Соловьева

Якутский научный центр комплексных медицинских проблем, г. Якутск

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) относится к наиболее часто встречающимся хроническим заболеваниям печени. Частота данного заболевания оценивается в 20–30% в общей популяции и 67–75% в популяции людей, страдающих ожирением [1]. Генетические, а также экологи-

ческие факторы играют важную роль в развитии НАЖБП [2]. Одним из кандидатных генов, вовлеченных в патогенез НАЖБП, является ген *PNPLA3*, который кодирует синтез белка адипонутрина. Ряд исследований выявил ассоциацию гена *PNPLA3* с развитием НАЖБП [3] (рис. 1).



Рис. 1. Частота полиморфного варианта rs738409 гена *PNPLA3* в различных популяциях: желтый цвет – аллель G, синий цвет – аллель C. Данные получены из базы данных проекта «1 000 геномов» и из литературы [6]

Полногеномный поиск ассоциаций (GWAS) показал, что SNP в гене *PNPLA3* влияют на уровни ферментов печени в плазме [4]. Аллель G полиморфизма rs738409 гена *PNPLA3* сильно связан с НАЖБП, а также с увеличением показателей АСТ и АЛТ, уровня ферритина и стадии фиброза у пациентов с НАЖБП [5]. С целью выяснить генетический фон НАЖБП в якутской популяции в настоящей работе проведен анализ полиморфизма rs738409 гена *PNPLA3*.

Цель исследования – изучить полиморфизм rs738409 гена *PNPLA3* у коренного якутского населения Республики Саха (Якутия).

Материалы и методы

Исследование проводилось в лаборатории наследственной патологии ЯНЦ КМП. Для исследо-

вания использованы образцы ДНК из коллекции биоматериала ЯНЦ КМП (г. Якутск). В настоящую работу были включены 179 здоровых добровольцев якутской национальности. У всех пациентов изучался полиморфизм rs738409 гена *PNPLA3*. Образцы геномной ДНК выделяли из цельной крови пациентов стандартным фенол-хлороформным методом. Однонуклеотидный полиморфизм (SNP) определяли с помощью ПЦР. Использовались специфичные праймеры (форвард праймер: 5'-TGGGCCTGAAGTCCGAGGGT-3' и реверс праймер: 5'-CCGACACCAGTGCCTGCAG-3') (ООО «Биотех-Индустрия», г. Москва). После ПЦР амплификат разрезался с помощью эндонуклеазы рестрикции BstF5 I (ООО «СибЭнзим», г. Новосибирск) при индивидуальных для фермента условиях (рис. 2).

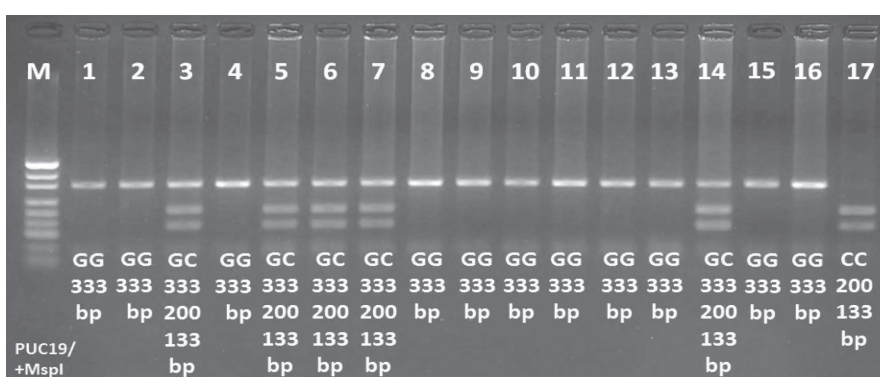


Рис. 2. Электрофореграмма продукта амплификации участка гена *PNPLA3* в 4%-ном агарозном геле. 17 – генотип CC; 3, 5, 6, 7, 14 – генотип GC; 1, 2, 4, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16 – генотип GG. М – маркер *PUC19/+Msp I*. bp – пар оснований

Результаты

В результате генотипирования популяционной выборки якутов по гену *PNPLA3* выявлено преобладание генотипа GG (61,5%). Значительно реже встречается генотип CC (7,8%). В свою очередь, генотип GC наблюдали у 30,7% пациентов. Анализ распределения аллелей полиморфного локуса *PNPLA3* (rs738409) показал более высокую частоту аллеля G – 76,8%. Аллель С встречается у якутов с

частотой 23,2%. Популяционно-генетический анализ распределения генетических полиморфизмов среди якутов по гену адипонутрина *PNPLA3* (rs738409) показал, что уровень наблюдаемой гетерозиготности составил $H_o = 0,307$. Уровень ожидаемой гетерозиготности составил $H_e = 0,356$. Распределение генотипов полиморфизма rs738409 находилось в равновесии Харди–Вайнберга в исследованной выборке ($p > 0,05$). Частоты генотипов полиморфизма *PNPLA3* rs738409 приведены в таблице.

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфизма rs738409 гена *PNPLA3*

Генотип	Наблюдаемая частота генотипов	Ожидаемая частота генотипов	Частота аллелей		H_o	H_e	χ^2	p
			G	C				
GG	0,615	0,590	0,768		0,307	0,356	3,377	0,0661
GC	0,307	0,356		0,232				
CC	0,078	0,054						

Примечание. χ^2 – хи-квадрат; H_o – наблюдаемая гетерозиготность; H_e – ожидаемая гетерозиготность, p – достигнутый уровень статистической значимости.

Заключение

В результате проведенной работы исследован ген *PNPLA3* у якутов. Установлено, что распределение частот аллелей и генотипов гена *PNPLA3* (rs738409) находится в соответствии с законом Харди–Вайнберга. По данным проекта «1 000 геномов» с высокой частотой аллель G встречается в популяциях Центральной и Южной Америки (перуанцы – 71,8%, мексиканцы – 55,5%, колумбийцы – 41%)

(см. рис. 1). Чем выше процент коренного индейского населения, тем выше частота аллеля G, это можно увидеть на примере низкой частоты аллеля G (31,7%) в популяции Пуэрто-Рико, где коренное индейское население составляет 11%. В Азии высокая частота аллеля G у японцев (42,3%). Самая низкая частота аллеля G у африканцев (8,6–17,2%). У европейцев частота аллеля G в среднем 22,6%. Высокая частота аллеля G у якутов (76,8%), вероятно, связана с маленькой популяционной выборкой

($n = 179$), что требует тщательного исследования на более крупных выборках популяций Якутии. Также необходимо дальнейшее исследование гена *PNPLA3* у якутов с НАЖБП.

Литература

1. Каримов М.М., Далимова Д.А., Собирова Г.Н., Саатов З.З., Хамдамова Ш.Ж. Исследование ассоциации полиморфизма гена *PNPLA3* с неалкогольной жировой болезнью печени в узбекской популяции // Евразийский журнал внутренней медицины. 2015. № 2 (02). С. 25–27.
2. Wilfred de Alwis N.M., Day C.P. Genetics of Alcoholic Liver Disease and Nonalcoholic Fatty Liver Disease // Seminars in Liver Disease. 2007. V. 27. P. 44–54.
3. Romeo S., Sentinelli F., Dash S. et al. Morbid obesity exposes the association between *PNPLA3* 1148M (rs738409) and indices of hepatic injury in individuals of European descent // Int. J. Obes. (Lond). 2010. V. 34. P. 190–194.
4. Hotta K., Yoneda M., Hyogo H. et al. Association of the rs738409 polymorphism in *PNPLA3* with liver damage and the development of nonalcoholic fatty liver disease // BMC Med. Genet. 2010. V. 11. P. 172.
5. Alyavi A.L., Sobirova G.N., Karimov M.M. Association of rs738409 Polymorphism in the *PNPLA3* Gene with Nonalcoholic Fatty Liver Disease // International Journal of Biomedicine (Suppl 1). 2014. V. 4 (4). P. S8–S11.

ГЕН-СРЕДОВЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КАК ОСНОВА ПОПУЛЯЦИОННО-СПЕЦИФИЧНЫХ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ С МНОГОФАКТОРНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

А.Н. Кучер

НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

Реализация генетической программы любого организма, в том числе и человека, в значительной степени зависит от средовых факторов, и несоответствие условий среды обитания генетическим особенностям индивида может привести к развитию патологии. К настоящему времени получен ряд как косвенных, так и прямых доказательств модифицирующих эффектов среды на генетическую компоненту многофакторных заболеваний. Известен ряд полиморфных вариантов генов, для которых распространенность частот аллелей ассоциирована с природно-климатическими факторами, типом ведения хозяйства, диетическими предпочтениями в питании и т.д. В частности, доказано, что эффектам отбора были подвержены варианты генов, продукты которых задействованы в терморегуляции и определении устойчивости к холоду, регуляции солевого обмена, метаболизме ключевых компонент клубневых и зерновых и т.д. [1, 2]. Для ряда ассоциированных с данными средовыми факторами полиморфных вариантов установленна вовлеченность в формирование, риска развития заболеваний многофакторной природы [3].

Характер диеты оказывает влияние на экспрессионные профили белков, которые показали специфичность в зависимости от пищевых предпочтений в диете [4]. Уровень микро- и макроэлементов, витаминов в организме человека находится под генетическим контролем, при этом для ассоциированных с данными нутриентами вариантов генов регистрируются этнотерриториальные различия в распределении частот аллелей [3, 5]. Установлен разный эффект аллелей и генотипов полиморфных вариантов на риск развития заболевания в зависимости от уровня потребления нутриентов и характера диеты. Так, эффект аллелей / генотипов по rs9939609 гена *FTO* в отношении риска развития ожирения у детей зависит от уровня потребления витамина D, а риска развития сахарного диабета 2-го типа у взрослых – от типа диеты [6, 7]. Интересно, что эффект неблагоприятных аллелей rs1421085 гена *FTO* на риск развития ожирения значительно снижался

при увеличении физической активности [8]. Только при учете особенностей характера питания выявлены ассоциации rs894160 гена *PLIN1* и rs3786897 гена *PEPD* с ожирением [9]. Дефицит холина может возникнуть при недостаточном поступлении холина с пищей у индивидов, обладающих некоторыми вариантами генов *PEMT*, *CHDH*, *MTHFD1* [10], что может явиться причиной развития заболеваний многофакторной природы. Более того, дефицит холина (как и других нутриентов – витаминов B₁₂, B₆, селена, цинка и др.) может оказать неблагоприятное влияние на уровень экспрессии широкого спектра генов посредством эпигенетических модификаций. Многие лекарственные препараты влияют на уровень экспрессии генов на различных уровнях. Так, установлены эффекты некоторых лекарственных препаратов на уровень метилирования CpG-сайтов микро-РНК [11], что может сказаться на экспрессионных профилях белков. Известно, что антиаритмический препарат амиодарон и (или) его метаболит ингибируют изоферменты CYP1A1, CYP1A2, CYP3A4, CYP2C9, CYP2D6 и P-гликопротеин. Один и тот же ген может быть «чувствителен» к воздействию различных лекарственных препаратов. Например, один из ключевых ферментов метаболизма гистамина – AOC1 – блокируется большим числом препаратов (фенипразином, изониазидом, добутамином и др.), что при определенных условиях может привести к повышению в организме уровня свободного гистамина и, как следствие, возможно проявление широкого спектра патологических реакций, затрагивающих различные системы органов. Неблагоприятный эффект лекарственных препаратов на AOC1 будет более выраженным, если индивиды обладают генетическими вариантами, снижающими ферментативную активность либо стабильность этого фермента [12]; у европеоидов частота таких вариантов достаточно высока: до 50% населения могут являться их носителями в гомо- или гетерозиготном состоянии [5]. Эффекты генетических вариантов генов, кодирующих ферменты, могут быть более выражены, если в организме наблюдается дефицит микроэлементов

или других веществ, являющихся кофакторами. Интересно, что коморбидность не всегда может быть объяснена общностью генетической компоненты заболеваний, но продукты генов, варианты которых ассоциированы с коморбидными состояниями, зачастую имеют одни и те же кофакторы (например, ионы металлов) [13]. При этом лекарственные препараты могут негативно влиять и на уровень кофакторов. Так, применение ингибиторов протонной помпы и блокаторов H₂ гистаминовых рецепторов приводит к развитию гипомagneмии [14], а ионы магния являются кофакторами многих ферментов.

С учетом этнотерриториальных различий в структуре генофондов, адаптация которых происходила к определенным условиям обитания, стремительного преобразования структуры современных популяций, наряду с изменением (ухудшением) среды обитания, становится очевидной важность при проведении исследований, направленных на выявление генетических факторов, лежащих в основе формирования риска развития заболеваний многофакторной природы, учитывать возможные средовые эффекты. Это в ряде случаев позволит объяснить противоречивость результатов ассоциативных исследований, полученных разными авторами, причины коморбидных заболеваний, а также ответить на вопрос, почему неблагоприятными (повышающими риск развития болезни) являются широко распространенные генетические варианты.

Литература

1. Hancock A.M., Witonsky D.B., Ehler E. et al. Human adaptation to diet, subsistence, and ecoregion are due to subtle shifts in allele frequency // PNAS. 2010. V. 107. P. 8924–8930.
2. Raj S.M., Pagani L., Romero I.G. et al. A general linear model-based approach for inferring selection to climate // BMC Genetics. 2013. V. 14. P. 87.
3. MacArthur J., Bowler E., Cerezo M. et al. The new NHGRI-EBI Catalog of published genome-wide association studies (GWAS Catalog) // Nucleic Acids Research. 2017. V. 45 (Database issue): D896–D901.
4. Rangel-Zúñiga O.A., Camargo A., Marin C. et al. Proteome from patients with metabolic syndrome is regulated by quantity and quality of dietary lipids // BMC Genomics. 2015. V. 8, № 16. P. 509.
5. URL: <http://www.ensembl.org> (acttss date: 01.05.2017)
6. Lourenco B.H., Qi L., Willett W.C. et al. FTO genotype, vitamin D status, and weight gain during childhood // Diabetes. 2014. V. 63 (2). P. 808–814.
7. Ortega-Azorin C., Sorli J.V., Asensio E.M. et al. Association of the FTO rs9939609 and MC4R rs17782313 polymorphism with type 2 diabetes are modulated by diet, being higher when adherence to the Mediterranean diet pattern is low // Cardiovas. Diabetol. 2012. V. 11. P. 137.
8. Reddon H., Gerstein H.C., Engert J.C. et al. Physical activity and genetic predisposition to obesity in a multiethnic longitudinal study Hudson // Sci. Rep. 2016 V. 6. P. 18672.
9. Zheng J., Huang T., Li K. et al. Modulation of the association between the PEPD variant and the risk of type 2 diabetes by n-3 fatty acids in Chinese Hans // J. Nutrigenet. Nutrigenomics. 2015. № 8. С. 36–43.
10. Zeisel S.H. Choline: Clinical Nutrigenetic/Nutrigenomic Approaches for identification of function and dietary requirements // World Rev. Nutr. Diet. 2010. V. 101. P. 73–83.
11. Кучер А.Н., Бабушкина Н.П., Масленников А.Б. Генетика многофакторных заболеваний: проблемы изучения и внедрения результатов в практическое здравоохранение // Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике / под ред. А.Б. Масленникова. Новосибирск: Академиздат, 2016. Вып. 24. С. 124–152.
12. Кучер А.Н., Бабушкина Н.П. Гены гистаминового метаболического пути и болезни: коморбидность и клиническая гетерогенность // Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике / под ред. А.Б. Масленникова. Новосибирск: Академиздат, 2017. Вып. 26. С. 66–89.
13. Кучер А.Н., Назаренко М.С., Марков А.В. и др. Вариативность профилей метилирования CpG-сайтов генов микро-РНК в лейкоцитах и тканях сосудов при атеросклерозе у человека // Биохимия. 2017. Т. 82, вып. 6. С. 923–933.
14. Kieboom B.C., Kieffe-de Jong J.C., Eijgelsheim M. et al. Proton pump inhibitors and hypomagnesemia in the general population: a population-based cohort study // Am. J. Kidney Dis. 2015. V. 66 (5). P. 775–782.

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ В ПОЖИЛОМ ВОЗРАСТЕ: КАК ДИАГНОСТИРОВАТЬ БОЛЕЗНЬ АЛЬЦГЕЙМЕРА?

О.А. Макеева^{1,2}, В.А. Степанов¹

¹ НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

² Центр клинических исследований «Неббхиоло», г. Томск

Ранняя диагностика болезни Альцгеймера (БА) с поздним началом является одной из наиболее острых проблем нейробиологии и медицины. На стадиях, когда уже имеются клинические проявления, это заболевание практически не поддается лечению и современные лекарства не способны значительно модифицировать ее течение.

Оценка когнитивного статуса, на которой в настоящее время основаны критерии диагностики БА, часто может быть субъективной, так как далеко не всегда можно отличить признаки БА от нормального снижения когнитивных функций, возникающего с возрастом. Прогресс в развитии методов диагностики БА стал возможен благодаря наблюдению за когортами здоровых индивидов пожилого

возраста и пациентов с БА, что привело к становлению перспективных диагностических и прогностических методов, таких как нейровизуализация распределения бета-амилоида и измерение его уровней в спинно-мозговой жидкости (СМЖ). Хотя эти методы обладают хорошей диагностической и прогностической точностью, высокая стоимость и инвазивная природа взятия СМЖ в настоящее время ограничивают использование этих методов в рутинной клинической практике. Геномные маркеры представляют собой еще один подход к выделению групп риска по этому заболеванию, и ряд из них давно используется в клинических исследованиях для разработки методов лечения ранних стадий БА.

К первым признакам заболевания относятся следующие нарушения нейропсихологических функций: нарушение фиксации информации, ее перевода из кратковременной в долговременную память, функции произвольной организации деятельности, возможность выполнения сложных задач, переключение, рабочая память, называние и речевая беглость. На более поздних этапах заболевания снижается способность выполнять привычные каждодневные дела, нарастают дисфория и депрессия. Для оценки вышеперечисленных нарушений у пожилых людей, особенно для оценки изменений в динамике, необходимо использовать краткую и чувствительную батарею тестов.

В ходе исследования «Оценка нейропсихологического статуса пожилых людей в российской популяции» методом сплошного телефонного интервью была сформирована выборка более 2 000 человек подходящего по возрасту населения г. Томска, все участники получили приглашение на нейропсихологическое тестирование, были собраны демографические данные и истории болезней, получены образцы крови для выделения ДНК. Все пациенты дали письменное информированное согласие на участие в исследовании. Возраст в выборке варьировал от 59 до 89 лет (средний возраст 71,3 года). Женщины составили 77%. Кроме подробного медицинского анамнеза и семейной истории болезней были собраны данные о достигнутом уровне образования (количество лет, потраченных на образование и достигнутый уровень), профессии, статусе курения и др.

Для оценки нейрокогнитивного статуса использовались четыре основных нейропсихологических инструмента: 1) Монреальская шкала оценки когнитивных функций (MoCA); 2) отсроченное воспроизведение списка слов Консорциума по созданию регистра болезни Альцгеймера (CERAD WLM); 3) тест следования по маршруту, часть В (Trails B); 4) скрининговый опросник оценки когнитивных функций совместных исследований болезни Альцгеймера (ADCS-MCFSI).

Было проведено сравнительное исследование полученных результатов с двумя выборками из американских городов. Показано, что в российской популяции более высокий уровень распространенности артериальной гипертензии: 81% испытуемых против 48–50% в двух американских городах; бо-

лее высокая частота инсультов – 7,7% против 3,1 и 4,6% в двух городах в США; более высокая частота встречаемости сердечно-сосудистых заболеваний – 44,6% против 12,5 и 19,5% в США. Примерно одинаковый уровень распространенности ожирения – 36,4% в Томске против 31 и 34% в США. Были выявлены значительные отличия в результатах выполнения нейрокогнитивных тестов, которые могут быть связаны с разными уровнями здоровья популяции. Кроме того, наше исследование показало, что должны существовать региональные нормы выполнения психологических тестов, тесты должны быть адаптированы в отношении культурологических особенностей стран и языков, на которых они применяются.

В рамках проекта РФФИ у 710 пациентов были изучены частоты 62 полиморфных вариантов, принадлежащих 45 различным генам, ранее ассоциированных со следующими фенотипами: болезнь Альцгеймера, шизофрения, вариативности когнитивных способностей у нормальных индивидуумов. Мультиплексное генотипирование проводили методом времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией / ионизацией (MALDI-TOF).

Девять из 62 изученных маркеров были ассоциированы с вариативностью по общему баллу теста MoCA. Наибольшее количество ассоциаций было зафиксировано для локуса на хромосоме 19q13.32, включающего гены *APOE-TOMM40-PVRL2*. Около 9% вариативности объяснялось кумулятивным эффектом полиморфизмов в этом регионе. Эффект отдельных полиморфизмов варьировал от 0,7 до 1,8%. Кроме этого, были выявлены ассоциации с целым рядом генов, не входящих в этот кластер, в частности *CSMD1*, *RUNDC2A* и *TENM4*.

Таким образом, настоящее исследование затрагивает два основных малоинвазивных подхода для ранней диагностики БА с поздним началом и формирования групп риска среди пожилых людей. Панели генетических маркеров, прежде чем использоваться для оценки индивидуального риска БА, должны пройти этап валидации в проспективных исследованиях. Индивидуальная оценка риска БА с поздним началом будет оправдана тогда, когда появятся эффективные методы лечения этого заболевания.

Исследование выполнено при поддержке РФФИ (проект № 16-15-00020).

АССОЦИАЦИИ И МЕЖГЕННЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ 61 ПОЛИМОРФНОГО ВАРИАНТА ГЕНОВ ПОДВЕРЖЕННОСТИ К НЕЙРОПСИХИЧЕСКИМ РАССТРОЙСТВАМ С ВАРИАБЕЛЬНОСТЬЮ КОГНИТИВНЫХ СПОСОБНОСТЕЙ ПОЖИЛЫХ ЛЮДЕЙ

А.В. Марусин¹, О.А. Макеева^{1, 3}, К.В. Вагайцева^{1, 2}, А.В. Бочарова¹,
М.Г. Сваровская¹, В.А. Степанов^{1, 2}

¹ НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

² Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск

³ Центр клинических исследований «Неббиоло», г. Томск

Возрастные когнитивные нарушения затрагивают память и, в конечном счете, приводят к дезадаптации в повседневной жизни. Предполагается, что физиологические иволютивные изменения мозга

и развитие деменции имеют общую генетическую основу, что делает актуальным поиск генетических вариантов, разграничивающих «доброкачественные когнитивные нарушения» с психотическими рас-

стройствами личности и деменцией в пожилом возрасте.

Цель исследования – поиск взаимосвязи 61 SNP генов, ранее идентифицированных в полногеномных исследованиях болезни Альцгеймера, шизофрении, вариативности когнитивных способностей в норме, с общим баллом по Монреальской шкале оценки когнитивных функций (MoCA).

Материалы и методы

Поиск ассоциаций выполнен на выборке из 708 пожилых людей (74% составили женщины) в возрасте от 57 до 90 лет, средний возраст лиц, включенных в исследование – $71,8 \pm 0,2$ года. Оценка когнитивных инструментальных доменов проводилась с использованием MoCA. Мультиплексное генотипирование проводили методом времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией / ионизацией (MALDI-TOF).

Оценка взаимосвязи генетической вариативности с изменчивостью общего балла MoCA проведена с помощью непараметрических методов: критерия Краскела–Уолисса и медианного теста. Анализ межгенных и ген-средовых взаимодействий по дизайну случай–контроль выполнен путем сравнения двух групп со значениями общего балла MoCA выше или равным медиане ($Me \geq 23$) и ниже медианы ($Me < 23$) методом снижения многомерной размерности (MDR), применяя алгоритм расширенного поиска.

Результаты

Для всех 61 изученных полиморфных вариантов наблюдаемое распределение генотипов соответствовало ожидаемому при равновесии Харди–Вайнберга. Статистически значимые ассоциации (<1%) обнаружены для кластера SNP в генах, расположенных в локусе хромосомы 19q13.32 – PVRL2 (rs6857, rs6859), TOMM40 (rs2075650, rs157580) и APOE (rs429358, rs769449). Полиморфный вариант rs2616984 гена CSMD1 также ассоциирован с MoCA по медианному тесту ($p = 10^{-4}$) при проверке доминантного варианта наследования признака.

При анализе различных моделей наследования выявлены ассоциации с общим баллом MoCA при

уровне значимости ($p < 5\%$) для следующих генетических вариантов: rs1021261 гена LUZP2, rs11218343 гена SORL1, rs10273775 гена CNTNAP2; rs12922317 гена RUNDCA2; rs1466662 гена DCHS2; rs17194490 гена CNTN4; rs3772130 гена FBXO40; rs433598 гена ACSM1 и rs530965 гена TENM4.

В результате MDR-анализа показана одна модель сочетания трех полиморфных вариантов rs1021261 LUZP2 – rs2393895 ZNF365 – rs6857 PVRL2, которая дает близкий к статистически значимому эффект взаимодействия, влияющий на показатель когнитивных способностей – MoCA (CVC 7/10; $p = 0,055$).

Заключение

Проведенное исследование взаимосвязи 61 SNP с когнитивными способностями в пожилом возрасте выявило, что более 1/3 (21 из 61) изученных маркеров ассоциированы с общим баллом теста MoCA на уровне значимости от 0,1 до 9%.

При этом 16 SNP (26%) продемонстрировали ассоциацию с изучаемым признаком на уровне < 5%. Полиморфные варианты, отобранные для анализа по литературным данным, связаны с тяжелыми поведенческими или нейропсихическими расстройствами, интеллектом и когнитивными способностями. Выявленные ассоциации указывают на некоторые общие гены (а возможно, и механизмы) для расстройств личности, таких как шизофрения, деменция, и нормальной вариативности когнитивных функций.

Направлением дальнейших исследований является изучение генетики когнитивных способностей с помощью методов многомерной статистики с учетом возраста, уровня образования, социального статуса, факторов здоровья и предшествующего опыта прохождения тестов. Планируется анализ отдельных доменов MoCA-теста: внимание и концентрация, исполнительные функции, память, язык, зрительно-конструктивные навыки, абстрактное мышление, счет и ориентация с вариативностью генов, ассоциированных с шизофренией, болезнью Альцгеймера, когнитивной деятельностью и интеллектом.

Исследование выполнено за счет гранта РНФ (проект № 16-15-00020).

АССОЦИИИ ПОЛИМОРФИЗМОВ C>T (RS6311) ГЕНА СЕРОТОНИНОВОГО РЕЦЕПТОРА HTR2A, A>C (RS2271537) ГЕНА ТРИПТОФАН-2,3-ДИОКСИГЕНАЗЫ (ТРИПТОФАН-ПИРРОЛАЗЫ) TDO2 С АЛКОГОЛИЗМОМ И НАРУШЕНИЯМИ ЭМОЦИОНАЛЬНОЙ СФЕРЫ ПРИ АЛКОГОЛИЗМЕ У КОРЕННЫХ ЖИТЕЛЕЙ РЕСПУБЛИКИ САХА (ЯКУТИЯ)

Н.П. Матвеева (Попова)¹, Е.Г. Полтавская², А.Л. Сухомясова¹, Н.В. Хоютанова³

¹ Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, г. Якутск

² НИИ психического здоровья Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

³ Якутский республиканский наркологический диспансер, г. Якутск

Установлен вклад серотонинергической системы, в частности полиморфных локусов гена рецептора серотонина типа 2A 5-HTR2A, в развитие депрессивных состояний невротического спектра и эмоциональных нарушений [1, 2].

Цель исследования – анализ связи полиморфных вариантов rs6311 гена серотониновых рецепторов HTR2A и A>C (rs2271537) гена TDO2 с эмоциональными нарушениями у коренных жителей арктического и субарктического поясов при алкоголизме.

Материалы и методы

Основным инструментом исследования явилась Карта стандартизированного описания обследуемого по теме НИР «Патобиологические основы клинической гетерогенности психических и поведенческих расстройств вследствие употребления психоактивных веществ», разработанная в НИИ психического здоровья (авторы-составители: д-р мед. наук, профессор Н.А. Бохан, д-р мед. наук, профессор А.И. Мандель).

Для генотипирования по rs2271537 гена триптофан-пирролазы *TDO2* и rs6311 гена серотонинового рецептора *HTR2A* использовался метод ПЦР в реальном времени с помощью набора реагентов TaqMan@SNP Genotyping Assay фирмы Applied Biosystems (США). Амплификация и анализ результатов осуществлялись с помощью Real-Time ДНК амплификатора StepOnePlus фирмы Applied Biosystems (США).

Уровень тревожности и агрессии определяли методом психологического обследования с помощью опросников личностной и ситуативной тревожности Д. Спилбергера, Басса–Дарки.

Исследование проводилось в соответствии с этическими принципами проведения исследований человека согласно протоколу, утвержденному комитетом по биомедицинской этике НИИ психического здоровья. Обследованы 116 мужчин и женщин из северного района (субарктического пояса) якутской и эвенской национальностей в возрасте от 21 до 68 лет, в том числе 60 больных алкоголизмом и 56 здоровых индивидов. Статистическую обработку результатов производили с помощью программы SPSS 19 для Windows.

Результаты

Получены статистически значимые результаты при анализе взаимосвязи алкоголизма с личностными расстройствами. У жителей субарктического поя-

са при алкоголизме выявлена высокая ситуативная тревожность ($p = 0,025$).

Распределение частот генотипов исследуемого rs2271537 гена *TDO2* в объединенной группе якутов и эвенов субарктического пояса соответствовало равновесию Харди–Вайнберга (для выборки больных: $\chi^2 = 0,93$; $p > 0,05$, для контрольной группы: $\chi^2 = 0,85$; $p > 0,05$). Между выборками пациентов с алкогольной зависимостью и контрольной группой не установлено статистически значимых различий по распределению генотипов rs2271537 ($\chi^2 = 2,51$; $p = 0,29$) (табл. 1). В исследованной выборке генотип А/С в 53,6% встречается в контрольной группе и в 43,3% у больных алкоголизмом; наименьшая частота генотипа А/А зарегистрирована в контрольной группе – 12,5%; генотип С/С наблюдается с одинаковой частотой в обеих группах. При этом у обследованных с генотипом А/С гена *TDO2* в 57,6% случаев обнаружена выраженная враждебность, $p = 0,003$. Индивиды, гомозиготные по аллелю С (генотип С/С), имели низкое значение серотонина – в среднем $60,91 \pm 40,2$ нг/мл, у обладателей гетерозиготного генотипа А/С уровень серотонина был равен 89,33 нг/мл, а в выборке индивидов с гомозиготным генотипом А/А – 102,30 нг/мл.

Распределение частот генотипов исследуемого полиморфного варианта rs6311 гена *HTR2A* в объединенной группе якутов и эвенов субарктического пояса соответствовало равновесию Харди–Вайнберга ($p > 0,05$). Обращает на себя внимание двукратное снижение частоты гомозигот Т/Т по rs6311 в группе контроля и увеличение частоты генотипа Т/Т среди больных (табл. 2). Однако в целом различий по частоте регистрации генотипов и аллелей между сравниваемыми группами зарегистрировано не было ($\chi^2 = 0,92$; $p = 0,63$). У женщин субарктического пояса с генотипом С/С по rs6311 гена *HTR2A* в большинстве случаев агрессивность не выявлялась или диагностировалась в пределах нормы.

Таблица 1

Распределение частот генотипов и аллелей по rs2271537 гена *TDO2* в выборке больных алкогольной зависимостью и в контрольной группе

Группа обследованных	n	Частота генотипов			Частота аллелей		$\chi^2 (p)$ при сравнении частот генотипов / аллелей
		A/A	A/C	C/C	A	C	
Больные	60	0,233	0,433	0,333	0,450	0,550	2,51(0,29) / 0,78(0,38)
Контроль	56	0,125	0,536	0,339	0,393	0,607	

Примечание. n – число обследованных индивидов; p – достигнутый уровень статистической значимости.

Таблица 2

Распределение частот генотипов и аллелей по rs6311 гена *HTR2A* в выборке больных алкогольной зависимостью и в контрольных группах

Группа обследованных	n	Частота генотипов			Частота аллелей		$\chi^2 (p)$ при сравнении частот генотипов / аллелей
		C/C	C/T	T/T	C	T	
Больные	57	0,667	0,281	0,053	0,807	0,193	0,92(0,63) / 0,03(0,86)
Контроль	49	0,653	0,327	0,020	0,816	0,184	

Примечание. Обозначения – см. табл. 1.

Заключение

Таким образом, в ходе проведенного исследования у больных алкоголизмом установлена враждебность у 57,6% обследованных с генотипом А/С по rs2271537 гена *TDO2*, $p = 0,003$. Среди женщин субарктического пояса с генотипом С/С по rs6311 гена *HTR2A* в большинстве случаев агрессивность диагностировалась в пределах нормы.

Литература

1. Бохан Н.А., Иванова С.А., Левчук Л.А. Серотониновая система в модуляции депрессивного и аддиктивного поведения. Томск: Иван Федоров, 2013. С. 46–55.
2. Cao J., Liu X., Han S. et al. Association of the *HTR2A* Gene with Alcohol and Heroin Abuse // Hum Genet. 2014. V. 133 (3). P. 357–365.

СТРУКТУРНАЯ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ГЕНОМА КЛЕТОК СОСУДОВ И ЛЕЙКОЦИТОВ ПРИ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ АРТЕРИЙ

М.С. Назаренко^{1,2,3}, А.А. Слепцов¹, А.В. Марков¹, Ю.А. Королева¹,
А.Н. Казанцев², О.Л. Барбараш², В.П. Пузырёв^{1,3}

¹ НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

² НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, г. Кемерово

³ Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск

Патогенез атеросклеротического поражения артерий представляет собой многофакторный процесс, существенный вклад в его развитие вносит генетическая компонента [1]. Несмотря на активное проведение исследований в области генетики атеросклероза и его осложнений, локусов, изменчивость которых может быть фактором риска развития и прогрессии данных заболеваний, известно относительно немного [2]. Одна из причин такого состояния дел в исследуемой предметной области может быть связана с вниманием исключительно к наследуемым полиморфным генетическим вариантам, тогда как вне поля зрения остаются вполне ожидаемые изменения структуры и функциональной активности генов в соматических клетках в ходе онтогенеза или, по крайней мере, на этапах, предшествующих развитию заболевания [3]. Не исключено, что накопленный груз и спектр мутаций могут различаться в лейкоцитах и клетках артерий, внося вклад в подверженность и особенности течения атеросклероза и его клинических проявлений. В связи с этим актуальным является комплексный анализ структурной и эпигенетической вариабельности генома клеток сосудов и лейкоцитов при выраженном атеросклеротическом поражении артерий у человека.

Материалы и методы

В исследование включены мужчины с выраженным атеросклеротическим поражением коронарных и сонных артерий ($n = 315$) и относительно здоровые мужчины, не имеющие клинических проявлений со стороны сердечно-сосудистой системы ($n = 325$). У всех индивидов получены образцы лейкоцитов периферической крови. У больных в результате каротидной эндартерэктомии взяты образцы сонных артерий ($n = 150$), которые включали биоптаты из области атеросклеротической бляшки. Образцы правых коронарных артерий, пораженных атеросклерозом ($n = 35$), а также интактных внутренних грудных артерий ($n = 35$) и больших подкожных вен нижних конечностей ($n = 35$) собраны в результате коронарного шунтирования. Атеросклеротическое поражение артерий представляло собой позднюю стадию патологического процесса, что обусловило показания к оперативному лечению.

Молекулярное профилирование клеток сосудов и лейкоцитов периферической крови выполнено с помощью крупномасштабных и высокоразрешающих микрочиповых технологий, позволяющих идентифицировать вариации числа копий участков ДНК, оценивать уровни метилирования ДНК и транскрипции. В частности, вариации числа копий участков ДНК идентифицированы с использованием матричной сравнительной геномной гибридизации на плат-

форме SurePrint G3 Human CGH+SNP Microarray 2×400K (Agilent Technologies). Анализ уровня метилирования отдельных CpG-сайтов проведен с использованием микрочипов на базе платформы Infinium Human Methylation27 BeadChip (Illumina). Оценка уровня транскрипции осуществлена с помощью микрочипа на базе платформы HumanHT-12 v4 Expression BeadChip (Illumina). Исследования выполнены на базе Центра коллективного пользования научно-исследовательским оборудованием и экспериментальным биологическим материалом «Медицинская геномика» НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

Биоинформационная обработка полученных данных выполнена с помощью современных методов статистического анализа, которые включают различные базы данных и пакеты специализированных программ, реализованных в среде R. Для подтверждающего анализа вариаций числа копий участков ДНК использована количественная ПЦР в режиме реального времени, а изменение уровня метилирования отдельных генов-кандидатов верифицировано с помощью бисульфитного пиросеквенирования.

Результаты

В результате выполненного исследования установлено, что у больных атеросклерозом в лейкоцитах и клетках сосудов в области вариаций числа копий участков ДНК расположены гены, однонуклеотидный полиморфизм которых ранее был связан главным образом с факторами риска данного заболевания, а не с собственно фенотипом заболевания. В лейкоцитах у больных атеросклерозом увеличение копийности в хромосомных регионах 10q24.31 (*ERLIN1*) и 12q24.11 (*UNG*, *ACACB*) является результатом не только унаследованных, но и постзиготических событий. Белковые продукты генов, подверженных вариациям числа копий участков ДНК, вовлечены в метаболизм различных субстратов. Кроме того, регионы генома с вариациями числа копий участков ДНК содержат гены, белковые продукты которых участвуют в иммунореспонсивном ответе, обеспечивают функционирование обонятельных рецепторов и передачу сигналов.

При анализе уровня метилирования ДНК выявлено, что атеросклеротически пораженные артерии, по сравнению с интактными сосудами, на поздних стадиях патологического процесса у человека *in vivo* характеризуются умеренным изменением профиля метилирования ДНК с преобладанием отдельных относительно гиперметилированных CpG-сайтов. Белковые продукты генов с существенным увеличением уровня метилирования отдельных CpG-сайтов

участвуют в ограниченном спектре биологических процессов, обеспечивая функционирование мышечной системы и регуляцию концентрации ионов кальция в цитоплазме клеток. Белковые продукты генов, в которых расположены существенно гипометилированные CpG-сайты, связаны с широким спектром биологических процессов: развитие, иммуновоспалительный ответ, клеточный ответ на действие стимулов, нарушение метаболизма липидов, программируемая клеточная гибель. Гомеобокс-содержащие гены (*HOXD3*, *HOXD4*, *HOXA7* и *ALX4*) гипометилированы в клетках атеросклеротически измененных артерий по сравнению с интактными сосудами. Изменение уровня метилирования в локусе 2q31.1 (*HOXD4/HOXD3/MIR10B*) ассоциировано с атеросклеротическим поражением артерий, а в лейкоцитах пациентов уровень метилирования в данном регионе генома связан с курением и ишемическим инсультом.

При интегральном анализе вариабельности числа копий участков и метилирования ДНК с экспрессией генов показано, что в атеросклеротически пораженных сонных артериях по сравнению с интактными внутренними грудными артериями происходит изменение уровня метилирования и экспрессии в генах *LIPE*, *CIDEA*, *TMEM88*, *GATA2* и *S100A4*, а изменение числа копий участков ДНК и экспрессии

затрагивает ген *ACACB*. Общей сферой компетенции белковых продуктов генов, локализованных в области вариабельности числа копий участков ДНК, метилирования ДНК, а также транскрипции в клетках артерий, пораженных атеросклерозом, по сравнению интактными сосудами, является иммуновоспалительный ответ.

Большинство идентифицированных вариаций числа копий участков ДНК и регионов генома с изменением уровня метилирования ДНК не было ранее связано с атеросклерозом и его факторами риска, поэтому имеет большой потенциал в отношении идентификации молекулярных мишеней для профилактики, диагностики и лечения данной патологии.

Исследование выполнено за счет грантов РФФИ (проекты № 14-15-00305 и 16-15-10150).

Литература

1. Дзизинский А.А., Пузырёв В.П. Наследственность и атеросклероз. Новосибирск: Наука, 1977. 176 с.
2. Khera A.V., Kathiresan S. Genetics of coronary artery disease: discovery, biology and clinical translation // *Nat. Rev. Genet.* 2017. V. 18, № 6. P. 331–344.
3. Пузырёв В.П., Назаренко М.С., Лебедев И.Н. и др. Феномен парадоминантного наследования при атеросклерозе // *Медицинская генетика.* 2014. Т. 13, № 10. С. 10–17.

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ И ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ ЮВЕНИЛЬНОГО ИДИОПАТИЧЕСКОГО АРТРИТА

Л.Ш. Назарова¹, К.В. Данилко¹, В.А. Малиевский¹, Т.В. Викторова^{1,2}

¹ Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Уфа

² Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г. Уфа

Ювенильный идиопатический артрит (ЮИА) является одним из наиболее распространенных ревматологических заболеваний в педиатрической практике. Важное значение для определения тактики ведения пациентов имеет возможность раннего проведения тяжести течения заболевания.

Цель исследования – поиск возможных ассоциаций полиморфных локусов –308A>G гена *TNFA*, –511C>T гена *IL1B* и –174G>C гена *IL6* с тяжестью течения ЮИА у детей из Республики Башкортостан.

Материалы и методы

В исследование были включены 270 пациентов с ЮИА из Республики Башкортостан. В зависимости от распространенности суставного синдрома, наличия или отсутствия высокой лабораторной активности, системных проявлений, тяжелого увеита, быстрой рентгенологической прогрессии, формирования функциональной недостаточности и потребности в раннем назначении «агрессивной» терапии все пациенты были разделены на четыре группы по тяжести течения заболевания: очень тяжелое, тяжелое, средней тяжести и легкое. Изучение полиморфных локусов –308A>G гена *TNFA*, –511C>T гена *IL1B* и –174G>C гена *IL6* проводили методом ПЦР в реальном времени, статистическую обработку результатов – в программах Microsoft Excel, Sta-

tistica10, R v. 3.2.0 с использованием точного двустороннего критерия Фишера (*p*), оценки отношения шансов (*OR*) и 95%-ного доверительного интервала (95% *CI*).

Результаты

В результате исследования было установлено, что у пациентов с очень тяжелым течением ЮИА аллель G полиморфного локуса –174G>C гена *IL6* встречался статистически значимо чаще, чем у других пациентов (*OR* = 1,513; 95% *CI*: 1,055–2,166; *p* = 0,028). В то же время при легком течении ЮИА была отмечена значительно более высокая, чем в остальных группах, частота аллеля A полиморфного локуса –308A>G гена *TNFA* и генотипа СТ полиморфного локуса –511C>T гена *IL1B* (*OR* = 2,112; 95% *CI*: 1,009–4,320; *p* = 0,046 и *OR* = 2,398; 95% *CI*: 1,102–5,069; *p* = 0,025 соответственно). При последующем анализе с учетом гендерных различий указанные выше ассоциации по полиморфным локусам –174G>C гена *IL6* и –308A>G гена *TNFA* были подтверждены только для мальчиков (*OR* = 1,941; 95% *CI*: 1,046–3,660; *p* = 0,042 и *OR* = 5,222; 95% *CI*: 1,895–15,542; *p* = 0,005 соответственно), а по полиморфному локусу –511C>T гена *IL1B* – только для девочек (*OR* = 10,108; 95% *CI*: 2,677–44,946; *p* = 0,0004). Кроме того, оказалось, что генотип ТТ и

аллель Т полиморфного локуса –511С>Т гена *IL1B* служат маркерами очень тяжелого течения ЮИА у мальчиков ($OR = 3,600$; 95% CI : 1,035–10,621; $p = 0,038$ и $OR = 2,18$; 95% CI : 1,131–4,120; $p = 0,020$ соответственно).

При подтверждении полученных результатов на выборках большего объема генотипирование полиморфных локусов –308А>G гена *TNFA*, –511С>Т гена *IL1B* и –174G>C гена *IL6* может быть использовано для прогнозирования тяжести течения ЮИА.

АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ СОЧЕТАНИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ДНК МАРКЕРОВ ИММУННОГО ОТВЕТА С ИНФАРКТОМ МИОКАРДА

Т.Р. Насибуллин¹, Я.Р. Тимашева¹, И.А. Туктарова¹, В.В. Эрдман¹, М.Ю. Шеин², О.Е. Мустафина¹

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г. Уфа
Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы, г. Уфа

Отягощенный семейный анамнез по сердечно-сосудистым заболеваниям является независимым фактором риска инфаркта миокарда (ИМ). Согласно результатам исследований монозиготных и дизиготных близнецов, вклад наследственности в развитие ИМ составляет от 50 до 60% [1]. ИМ – многофакторное, полигенное заболевание, его развитие определяется совместным вкладом множества сложно взаимодействующих полиморфных генов и факторов внешней среды, при этом вклад каждого из генов в отдельности в формирование такой патологии может быть небольшим. Соответственно, одним из подходов к изучению молекулярно-генетических основ наследственной предрасположенности к ИМ является анализ ассоциаций с ИМ сочетаний полиморфных ДНК маркеров, расположенных в области генов, контролирующих синтез белков, задействованных в патогенезе заболевания.

В настоящем исследовании проведен анализ ассоциаций с ИМ сочетаний полиморфных маркеров генов молекул адгезии rs1131498 (F206L, ген *SELL*), rs6131 (S290N, ген *SELP*), rs2076059 (3832C>T, ген *SELE*), rs5498 (K469E, ген *ICAM1*), rs3917010 (с.928+420А>С, ген *VCAM1*), rs668 (V125L, ген *PECAM1*), хемокинов и их рецепторов rs1024611 (–2518А>G, ген *CCL2*), rs1799864 (V64I, ген *CCR2*), rs3732378 (T280M, ген *CX3CR1*), интерлейкинов rs1800795 (–174G>C, ген *IL6*), rs1800872 (–592С>А, ген *IL10*), rs3212227 (1159А>С, ген *IL12B*), факторов некроза опухолей и их рецепторов rs1800629 (–308G>А, ген *TNF*), rs909253 (252А>G, ген *LTA*), rs767455 (36А>G, ген *TNFRSF1A*), rs1061622

(M196R, ген *TNFRSF1B*) и rs35569394 (–2549(18)I/D, ген *VEGFA*).

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили образцы ДНК больных, перенесших ИМ (367 мужчин в возрасте 46,51 ± 6,93 лет) и соответствующей контрольной группы (290 мужчин в возрасте 44,15 ± 7,89 лет). Все участники исследования были русскими по этнической принадлежности. Исследование одобрено комитетом по этике ИБГ УНЦ РАН, письменное информированное добровольное согласие получено от всех лиц, принявших в нем участие.

Анализ проводился с использованием ПЦР с последующим ПДРФ-анализом или с помощью аллель-специфичной ПЦР. Поиск сочетаний осуществлялся с помощью алгоритма APSampler [2]. В качестве поправки на множественность сравнений использовали FDR тест, статистически значимыми принимались результаты с $p_{FDR} < 0,05$.

Результаты

В контрольной группе и группе больных ИМ полученные распределения частот генотипов по изученным полиморфным ДНК локусам соответствовали теоретически ожидаемому равновесному распределению Харди–Вайнберга. С помощью алгоритма APSampler было получено более 20 тыс. сочетаний аллелей и генотипов. Из них наибольший интерес представляют сочетания с OR более 4 (таблица).

Наиболее значимые для ИМ сочетания генотипов и аллелей по изученным полиморфным вариантам генов

Сочетание	Контроль, %	Больные, %	p_{FDR}	OR	95% CI_{OR}
<i>SELL</i> *F+ <i>VCAM1</i> *C/A+ <i>TNFRSF1B</i> *G+ <i>IL6</i> *G+ <i>IL12B</i> *C	1,03	9,02	0,008	9,48	2,88–31,24
<i>VCAM1</i> *C/A+ <i>TNFRSF1B</i> *G+ <i>IL6</i> *G+ <i>IL12B</i> *C	1,38	9,56	0,008	7,56	2,65–21,53
<i>SELL</i> *F+ <i>VCAM1</i> *C/A+ <i>TNFRSF1B</i> *G+ <i>IL12B</i> *C	1,72	9,54	0,008	6,01	2,32–15,54
<i>SELP</i> *S+ <i>VCAM1</i> *C/A+ <i>TNFRSF1B</i> *G+ <i>IL12B</i> *C	2,07	10,08	0,009	5,31	2,21–12,76
<i>VCAM1</i> *C/A+ <i>TNFRSF1B</i> *G+ <i>IL10</i> *C+ <i>IL12B</i> *C	2,07	9,81	0,009	5,15	2,14–12,4
<i>SELL</i> *F+ <i>SELP</i> *S+ <i>VCAM1</i> *C+ <i>TNFRSF1B</i> *G+ <i>IL12B</i> *C	2,76	10,90	0,01	4,31	1,99–9,37
<i>SELE</i> *C/C+ <i>SELP</i> *N+ <i>ICAM1</i> *E+ <i>CCR2</i> *I	0,00	4,68	0,011	6,32	2,4–16,66

Окончание табл.

Сочетание	Контроль, %	Больные, %	p_{FDR}	OR	95% CI_{OR}
<i>CCL2</i> *A/A+ <i>VCAM1</i> *C+ <i>TNFRSF1B</i> *G+ <i>IL12B</i> *C	1,03	7,42	0,011	7,66	2,3–25,53
<i>SELP</i> *S/S+ <i>VCAM1</i> *C+ <i>TNFRSF1B</i> *G+ <i>IL12B</i> *C	1,38	7,90	0,013	6,13	2,13–17,66
<i>CCL2</i> *A/A+ <i>CCR2</i> *I+ <i>LTA</i> *G+ <i>IL10</i> *A	0,34	4,70	0,027	14,24	1,88–107,66

Примечание. OR – показатель отношения шансов; 95% CI_{OR} – 95%-й доверительный интервал для OR.

Заключение

Выявленные статистически значимые сочетания генотипов и аллелей по полиморфным маркерам генов-кандидатов сердечно-сосудистых заболеваний могут рассматриваться как маркеры высокой вероятности развития ИМ для мужчин в возрасте от 30 до 55 лет.

Литература

1. Wienke A., Holm N.V., Skytthe A., Yashin A. The heritability of mortality due to heart diseases: a correlated frailty model applied to Danish twins // *Twin Research*. 2001. V. 4, № 4. С. 266–274.
2. Favorov A.V., Andreewski T.V., Sudomoina M.A. et al. A Markov chain Monte Carlo technique for identification of combinations of allelic variants underlying complex diseases in humans // *Genetics*. 2005. V. 171, № 4. P. 2113–2121.

ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ РЯДА ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ С РАЗВИТИЕМ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК

Е.В. Некипелова, С.С. Сиротина

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, г. Белгород

Распространенность хронической болезни почек (ХБП) сопоставима с такими социально значимыми заболеваниями, как гипертоническая болезнь и сахарный диабет. Признаки повреждения почек и снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ) выявляют как минимум у каждого десятого представителя общей популяции [1]. Быстрый рост в популяции числа больных со сниженной функцией почек является общемедицинской проблемой, имеющей серьезные социально-экономические последствия [2].

Цель настоящей работы – изучение ассоциации полиморфных маркеров генов-кандидатов *IL4R* с.1507T>C (rs1805015), *CYBA* с.–932C>T (rs9932581), *GPX2* с.518C>A (rs35179634) с развитием ХБП.

При анализе генетических полиморфизмов *IL4R* с.1507T>C, *CYBA* с.–932C>T, *GPX2* с.518C>A использовали ДНК 837 больных с ХБП (467 женщин и 370 мужчин) и 576 здоровых лиц. Оценку полиморфизмов изученных генов проводили методом ПЦР синтеза ДНК с использованием стандартных олигонуклеотидных праймеров.

При сравнительном анализе распределения частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров изученных генов установлены статистически значимые различия между больными ХБП и контролем. В выборке больных ХБП частоты регистрации аллелей 1507T *IL4R* (87,14%), –932T *CYBA* (44,57%), 518A *GPX2* (3,42%) выше, а распространенность вариантов 1507C *IL4R* (12,86%), –932C *CYBA* (55,43%), 518C *GPX2* (96,58%) ниже, чем в контрольной

группе. Между выборкой женщин, больных ХБП, и контрольной группой зарегистрированы статистически значимые различия: у больных частота варианта 1507T *IL4R* (87,81%) выше, а распространенность гомозиготного генотипа 1507CC *IL4R* (0,91%) ниже, чем в контрольной группе. По полиморфным вариантам генов *CYBA* с.–932C>T и *GPX2* с.518C>A статистически значимых различий между больными женщинами и контрольной группой не выявлено. Среди больных мужчин с ХБП частота аллеля –932T *CYBA* (45,92%) и генотипа 518AC *GPX2* (7,29%) выше, а распространенность варианта 518A *GPX2* (3,96%) и генотипа 518CC *GPX2* (92,42%) ниже, чем в контрольной группе. По генетическому полиморфизму гена *IL4R* с.1507T>C статистически значимых различий между больными мужчинами и контрольной группой не установлено.

Таким образом, показана возможная ассоциация полиморфных вариантов генов *IL4R* с.1507T>C (rs1805015), *CYBA* с.–932C>T (rs9932581), *GPX2* с.518C>A (rs35179634) с развитием ХБП.

Литература

1. Добронравов В.А., Смирнов А.В., Драгунов С.В. и др. Эпидемиология хронической почечной недостаточности в Северо-Западном регионе России: на пути к созданию регистра хронической почечной болезни // *Терапевтический архив*. 2004. Т. 76, № 9. С. 57–61.
2. Delanaye P., Cavalier E., Mariat C. et al. MDRD or CKD-EPI study equations for estimating prevalence of stage 3 CKD in epidemiological studies: which difference? Is this difference relevant? // *BMC Nephrol*. 2010. V. 11. P. 8.

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ДОФАМИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ И ТРАНСПОРТЕРОВ С РАЗВИТИЕМ НЕЙРОЛЕПТИЧЕСКОЙ ГИПЕРПРОЛАКТИНЕМИИ У ПАЦИЕНТОВ С ШИЗОФРЕНИЕЙ

Д.З. Османова^{1,2}, А.С. Бойко¹, О.Ю. Федоренко¹, И.В. Пожидаев^{1,2}, М.Б. Фрейдin³,
Е.Г. Корнетова¹, С.А. Иванова¹, В. Wilffert⁴, А. J.M. Loonen⁴

¹ НИИ психического здоровья Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

² Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск

³ НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

⁴ Groningen Research Institute of Pharmacy, University of Groningen, Groningen, The Netherlands

Антипсихотические препараты являются основным методом лечения пациентов с шизофренией и используются как для лечения острой позитивной и негативной симптоматики, так и для поддержания состояния ремиссии [1]. Нейролептики могут вызывать разнообразные нежелательные лекарственные реакции, снижающие приверженность больных к лечению, требующие замены лекарственного средства или назначения корректирующих средств, что повышает стоимость лечения и в целом затрудняет продолжение антипсихотической терапии. Терапия антипсихотическими препаратами приводит к развитию синдрома гиперпролактинемии, различным нарушениям, входящим в структуру метаболического синдрома, вызывает гормональный дисбаланс в гипоталамо-гипофизарно-гонадной и гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной осях, а также влияет на секрецию ряда других гормонов.

Синдром нейролептической гиперпролактинемии встречается чаще у женщин репродуктивного возраста и составляет 48–93% случаев. У мужчин частота указанного синдрома варьирует от 42 до 47%. Вероятность развития гиперпролактинемии зависит от фармакологических свойств антипсихотика, его дозы, схемы и длительности приема, а также индивидуальной чувствительности и генетических особенностей пациента [2].

Механизм гиперпролактинемии при применении лекарственных препаратов заключается в основном в их антидофаминовом действии. Подавляющее большинство современных антипсихотических средств являются антагонистами D2-рецепторов. В результате их действия происходит снижение уровня гипоталамического дофамина, что служит причиной повышения уровня пролактина [3, 4].

В настоящем исследовании в качестве возможных генов-кандидатов на роль ответственных за особенности антипсихотического эффекта нейролептиков нами рассматривались полиморфные варианты генов дофаминовых рецепторов *DRD1* (rs4532, rs936461), *DRD2* (rs4245147, rs6279, rs2734842) и транспортера *SLC6A3* (rs3756450, rs2550956, rs6347, rs2617605, rs3863145, rs250686, rs464049, rs4975646, rs1048953, rs11133767, rs27048, rs40184).

Материалы и методы

Исследование проводилось в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации об этических принципах проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов (2000 г.). После получения информированного согласия были обследованы

430 пациентов с диагнозом шизофрении в соответствии с диагностическими критериями МКБ-10 (F20).

Определение содержания гормона пролактина в сыворотке крови проводилось иммуноферментным методом с использованием набора реагентов PRL Test System. Границы нормальных значений содержания гормона пролактина в крови: для мужчин – до 20 нг/мл, для женщин – до 25 нг/мл. Для выделения ДНК использовался стандартный фенол-хлороформный метод. Генотипирование проводилось с использованием The MassARRAY® Analyzer 4 by Agena Bioscience™ набором SEQUENOM iPLEX Gold 384.

Статистическая обработка результатов проводилась при помощи программы SPSS 20.0. Распределение частот генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди–Вайнберга с помощью критерия χ^2 . Сравнение частот генотипов в исследуемых группах проводили с использованием критерия χ^2 . Различия считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Исходя из полученных данных о содержании гормона пролактина в сыворотке крови, все пациенты с шизофренией были разделены на две группы: с гиперпролактинемией и с нормальным уровнем пролактина. Анализ полиморфизмов генов *DRD1*, *DRD2* и *SLC6A3* показал, что наблюдаемое распределение генотипов соответствует ожидаемому при равновесии Харди–Вайнберга.

При сравнении частот генотипов полиморфных вариантов генов *DRD1* и *DRD2* между группами пациентов с гиперпролактинемией и пациентов без гиперпролактинемии статистически значимых различий выявлено не было.

Статистически значимые результаты были получены для полиморфного варианта rs2550956 гена *SLC6A3* ($\chi^2 = 9,99$; $p = 0,007$). Гетерозиготный генотип TC полиморфного варианта rs2550956 статистически значимо реже встречается у больных с повышенным уровнем пролактина и обладает протективным свойством в отношении развития гиперпролактинемии (OR = 0,54; 95% CI: 0,36–0,81). Для полиморфных вариантов rs3756450, rs6347, rs2617605, rs3863145, rs250686, rs464049, rs4975646, rs1048953, rs11133767, rs27048, rs40184 гена *SLC6A3* статистически значимых различий выявлено не было.

Известно, что группа дофаминовых рецепторов неоднородна. Лишь некоторые из них участвуют в

формировании психотической симптоматики и, соответственно, в антипсихотическом действии нейролептиков. Воздействие же нейролептиков на другие группы дофаминовых рецепторов приводит к появлению экстрапирамидных нарушений и иных побочных эффектов, а их роль в формировании собственно терапевтического ответа крайне незначительна.

Выяснение роли полиморфных вариантов генов нейромедиаторных систем в патогенезе развития лекарственно-индуцированной гиперпролактинемии у пациентов с социально значимыми эндогенными психическими расстройствами позволит оптимизировать генотип-специфический подход к оценке риска развития побочных эффектов фармакотерапии и разработать подходы к персонализированной терапии этих заболеваний.

АССОЦИИИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ VDR С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

А.В. Понасенко, М.В. Хуторная, А.В. Цепочкина, И.И. Жидкова, О.Л. Барбараш

НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, г. Кемерово

Многочисленные отечественные и зарубежные исследования роли активных метаболитов витамина D в качестве гормоноподобного вещества подтверждают его участие в процессах, не связанных с костной системой. Особое внимание уделяется изучению факторов, оказывающих влияние на связывание кальцитриола с его рецептором и обуславливающих биологические эффекты активной формы витамина D. В тканях-мишенях рецептор витамина D функционирует как в клеточных ядрах (в качестве фактора, влияющего на транскрипцию около 3% всего человеческого генома), так и в плазматических мембранах (в качестве модулятора экспрессии генов и активности целого ряда важнейших физико-химических и биохимических процессов) [1]. Как и для множества других генов, для гена VDR установлены полиморфные варианты. Получены данные о связи полиморфизма длин фрагментов рестрикции гена-рецептора витамина D (VDR) с рядом патологических состояний, в том числе и кальциноза атеросклеротической бляшки [2]. Основными сайтами рестрикции, вариабельность которых ассоциируется с развитием таких патологических состояний, как сахарный диабет, различные новообразования, нейродегенеративные и сердечно-сосудистые заболевания, являются Fok1, Bsm1, Taq1. Однако роль каждого из сайтов рестрикции в развитии патологических состояний, выяснена не в полной мере, в том числе не определено их значение при развитии атеросклероза коронарных артерий у жителей Западной Сибири.

Цель исследования – изучение распределения частот встречаемости аллелей и генотипов Fok1 (rs2228570) и Taq1 (rs731236) гена VDR в популяционной выборке и у жителей Кемеровской области со стабильной ишемической болезнью сердца (ИБС).

Материалы и методы

Обследованы 260 пациентов с подтвержденным диагнозом стабильной ИБС, обусловленной атеро-

Литература

1. Ivanova S.A., Osmanova D.Z., Boiko A.S. et al. Prolactin gene polymorphism (–1149 G/T) is associated with hyperprolactinemia in patients with schizophrenia treated with antipsychotics // *Schizophrenia Research*. 2017. V. 182. P. 110–114.
2. Ivanova S.A., Osmanova D.Z., Freidin M.B. et al. Identification of 5-hydroxytryptamine receptor gene polymorphisms modulating hyperprolactinaemia in antipsychotic drug-treated patients with schizophrenia // *World Journal of Biological Psychiatry*. 2017. V. 18. P. 239–246.
3. Miura I., Zhang J.P., Hagi K. et al. Variants in the DRD2 locus and antipsychotic-related prolactin levels: A meta-analysis // *Psychoneuroendocrinology*. 2016. V. 72. P. 1–10.
4. Al Hadithy A.F.Y., Ivanova S.A., Pechlivanoglou P. et al. Tardive dyskinesia and DRD3, HTR2A and HTR2C gene polymorphisms in Russian psychiatric inpatients from Siberia // *Progress in NeuroPsychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2009. V. 33. P. 475–481.

склерозом коронарных артерий. Популяционную группу составили 272 условно здоровых добровольца. Средний возраст участников исследования составил для женщин 57 лет (42%), для мужчин – 63 года (58%). Исследование одобрено локальным этическим комитетом. Генотипирование осуществляли методом аллель-специфичной ПЦР (в реальном времени). Концентрацию витамина D в сыворотке определяли методом ELISA. Статистический анализ проводили с использованием пакета программ Statistica 8.0 и SNPstats. Пороговым уровнем признания статистической значимости различий принят $p < 0,05$.

Результаты

Согласно международным базам крупномасштабных проектов секвенирования генома («1 000 геномов» и др.), частота минорных аллелей полиморфных вариантов Fok1 и Taq1 гена VDR варьирует от 29,95 до 36,24% и от 27,66 до 33,38% соответственно. Распределение частот аллелей в обследованных выборках представлено в табл. 1.

Для подтверждения роли минорного аллеля C rs731236 в увеличении риска развития ИБС провели анализ ассоциаций и определили, что носительство аллеля как в гомозиготном, так в гетерозиготном состоянии (доминантный тип наследования) увеличивает риск заболевания приблизительно в два раза (табл. 2) при прочих равных условиях (корректировка на курение, возраст и половую принадлежность, а также на наличие сахарного диабета 2-го типа, избыточной массы тела, артериальной гипертензии).

Уровень витамина D в сыворотке крови у всех пациентов с ИБС был снижен (табл. 3). Несмотря на то что вариантный аллель C rs731236 ассоциирован с повышенным риском развития ИБС, зависимостей между концентрациями витамина D и носительством минорных аллелей полиморфных сайтов рестрикции Fok1 и Taq1 не найдено (табл. 3).

Таблица 1

Частоты аллелей по rs2228570 и rs731236 гена VDR

Аллель	Все обследованные (n = 532)		Популяционная группа (n = 272)		Группа наблюдения (n = 260)		p
	Абс.	Доля	Абс.	Доля	Абс.	Доля	
rs2228570							
G	599	0,56	303	0,56	296	0,57	0,73
A	465	0,44	241	0,44	224	0,43	
rs731236							
T	681	0,64	367	0,67	314	0,6	0,19
C	383	0,36	177	0,33	206	0,4	

П р и м е ч а н и е. n – число обследованных; p – достигнутый уровень статистической значимости при сравнении популяционной выборки и группы наблюдения.

Таблица 2

Ассоциации генотипов по rs2228570 и rs731236 гена VDR с ИБС

Модель наследования	Генотипы	Популяционная группа (n = 272)		Группа наблюдения (n = 260)		OR (95% CI)	p
		N	%	N	%		
rs2228570							
Кодоминантная	G/G	84	30,9	83	31,9	1,00	0,022
	A/G	135	49,6	130	50,0	1,00 (0,63–1,57)	
	A/A	53	19,5	47	18,1	1,07 (0,60–1,92)	
Доминантная	G/G	84	30,9	83	31,9	1,00	0,0061
	A/G–A/A	188	69,1	177	68,1	1,02 (0,66–1,57)	
Рецессивная	G/G–A/G	219	80,5	213	81,9	1,00	0,19
	A/A	53	19,5	47	18,1	1,07 (0,64–1,79)	
Сверхдоминантная	G/G–A/A	137	50,4	130	50,0	1,00	0,072
	A/G	135	49,6	130	50,0	0,97 (0,65–1,45)	
Лог-аддитивная	–	–	–	–	–	1,03 (0,77–1,37)	0,011
rs731236							
Кодоминантная	T/T	135	49,6	98	37,7	1,00	0,08
	T/C	97	35,7	118	45,4	1,72 (1,11–2,67)	
	C/C	40	14,7	44	16,9	1,87 (1,04–3,39)	
Доминантная	T/T	135	49,6	98	37,7	1,00	0,026
	T/C–C/C	137	50,4	162	62,3	1,76 (1,17–2,65)	
Рецессивная	T/T–T/C	232	85,3	216	83,1	1,00	0,24
	C/C	40	14,7	44	16,9	1,44 (0,83–2,49)	
Сверхдоминантная	T/T–C/C	175	64,3	142	54,6	1,00	0,2
	T/C	97	35,7	118	45,4	1,45 (0,97–2,18)	
Лог-аддитивная	–	–	–	–	–	1,44 (1,09–1,91)	0,037

П р и м е ч а н и е. N – число индивидов с соответствующими генотипами. OR (95% CI) – отношение шансов (95%-й доверительный интервал). Другие обозначения – см. табл. 1. Жирным шрифтом выделены статистически значимые величины.

Таблица 3

Ассоциации генотипов Fok1 и Taq1 с уровнем витамина D, нмоль/л

Локус	Генотип	Сывороточные концентрации витамина D			p
		Q25	Медиана	Q75	
rs2228570	G/G	13,84	15,42	16,38	0,95
	A/G	11,34	15,70	22,07	
	A/A	11,05	16,19	21,42	
rs731236	T/T	12,83	15,76	22,04	0,77
	T/C	10,41	15,93	21,71	
	C/C	13,69	15,22	18,83	

Выводы

Все обследованные пациенты с ИБС страдают от нехватки витамина D. Полиморфизм в сайте рестрикции Taq1 может оказывать влияние на риски развития атеросклероза коронарных артерий, но не связан с изменением сывороточных концентраций витамина D.

Литература

1. Adams J.S., Hewison M. Update in vitamin D // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2010. V. 95 (2). P. 471–478.
2. Козлов А.И., Вершубская Г.Г., Негашева М.А. Полиморфизм гена рецептора витамина D (VDR) в выборках населения Европейской России и Приуралья // Пермский медицинский журнал. 2016. № 5. С. 60–66.

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ РЕЦЕПТОРА ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РОСТА БЕТА 1 (*TGFBR1*) ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПАХ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ СЕРДЦА

А.Э. Пушкарёва¹, Р.И. Хусаинова², К.И. Миннихметова¹, И.Р. Миннихметов¹, Э.К. Хуснутдинова²

¹ Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Уфа

² Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г. Уфа

За последние годы произошел значительный прогресс в понимании молекулярно-генетических причин сердечно-сосудистых заболеваний. Несмотря на это, распространенность и заболеваемость сердечной недостаточностью остаются поразительно высокими, что подтверждает актуальность поиска новых молекулярно-генетических маркеров диагностики и профилактики. Трансформирующий фактор роста бета (*TGFβ*) – представитель семейства многофункциональных цитокинов, регулирующих разнообразные клеточные функции [1]. Несколько исследований выявили вовлеченность *TGFβ1* в патологическое развитие фиброза [2], который приводит к нарушению функции миокарда и ремоделирования сердца.

Цель исследования – анализ нуклеотидной последовательности гена рецептора трансформирующего фактора роста бета (*TGFβR1*), иммуногистохимический анализ рецептора *TGFβR1* в миокарде больных с хронической сердечной недостаточностью (ХСН), а также поиск связи выявленных изменений с различными типами ремоделирования сердца.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили образцы ДНК 207 больных ХСН. В зависимости от типа ремоделирования левого желудочка сердца (ЛЖ) больные были разделены на две группы: 1-я группа – 84 больных с признаками эксцентрической гипертрофии ЛЖ; 2-я группа – 123 больных с признаками концентрической гипертрофии ЛЖ. В контрольную группу были включены 188 индивидов без признаков заболеваний сердечно-сосудистой системы (ССС). Для 101 образца аутопсийного материала сердца от умерших в результате ХСН пациентов, у которых был проведен молекулярно-генетический анализ, проведены иммуногистохимические исследования рецептора *TGFβ* в миокарде.

Геномную ДНК выделяли методом фенольно-хлороформной экстракции из лейкоцитов венозной крови. Амплификацию экзонов гена *TGFBR1* проводили с помощью праймеров, описанных ранее, а также сконструированных самостоятельно в программе PrimerSelect (DNASTAR, США). Поиск изменений нуклеотидной последовательности в гене *TGFBR1* выполняли методом анализа конформационного полиморфизма однонитевой ДНК (SSCP). Определение последовательности нуклеотидов проводили с помощью автоматического секвенатора ABI PRISM модель 310 (Applied Biosystems). Для иммуногистохимического исследования были использованы антитела (NovoCastra), афинносвязывающиеся с рецепторами к *TGFβR1*.

Результаты и обсуждение

Проведен анализ нуклеотидной последовательности девяти экзонов и фланкирующих интронных

областей гена *TGFBR1* в группах больных с ХСН с разными типами ремоделирования ЛЖ. Изменения подвижности однонитевой ДНК обнаружены в 3-м, 6-м и 8-м из 9 экзонов исследуемого гена. В 1-м, 2-м, 4-м, 5- и 9-м экзонах гена *TGFBR1* не выявлено изменений подвижности при SSCP анализе. Последующее секвенирование образцов с измененной подвижностью одноцепочечной ДНК позволило идентифицировать 5 типов изменения нуклеотидной последовательности.

В 3-м экзоне обнаружены два типа изменения подвижности одноцепочечной ДНК у двух больных ХСН. Идентифицирована замена гуанина на аденин в 457-м положении кодирующей области гена (с.457G>A) в гетерозиготном состоянии у больного с эксцентрическим типом ремоделирования ЛЖ. В результате данной транзиции происходит замена аминокислоты валин на изолейцин в 153-м положении белка *TGFβR1*. Мутация V153I, предположительно, может влиять на конформационное расположение рецептора в клеточной мембране. По данным проекта «1 000 геномов» изменение с.457G>A (p.V153I, rs56014374) выявлено в гетерозиготном состоянии у 2 из 1 090 изученных индивидов, что составило < 0,001% (<http://www.1000genomes.org>). Оба носителя были европейского происхождения, в популяциях Африки, Азии и Америки изменение с.457G>A в гене *TGFBR1* не обнаружено.

В третьем экзоне гена *TGFBR1* выявлена ранее не описанная замена аденина на гуанин в 516-м положении ДНК, не приводящая к изменению аминокислотной последовательности рецептора *TGFβ* первого типа (S172S) у больной с выраженной концентрической гипертрофией стенок ЛЖ. В доступной литературе и в базе данных по мутациям случаев выявления мутации с.464A>G (p.H155R) в гене *TGFBR1* не обнаружено.

Выявлена синонимичная замена аденина на цитозин в 1 125-м положении гена, не приводящая к замене кодируемой аминокислоты (p.Y377Y). В нашем исследовании обнаружен только один случай гетерозиготного носительства с.1125A>C у больного с концентрической формой гипертрофии ЛЖ, умершего в 46 лет от остановки сердечной деятельности. В рамках проекта «1 000 геномов» полиморфный вариант с.1125A>C (rs7861780) гена *TGFBR1* выявлен у европейцев и в смешанной популяции американцев с частотой менее 1% и не обнаружен в популяциях Африки и Азии.

В нашем исследовании в восьмом экзоне гена *TGFBR1* выявлена ранее не описанная миссенс-мутация с.1285A>C, приводящая к замене тирозина на серин в 229-й позиции белка (Y229S). Изменение затрагивает эволюционно консервативный участок и может привести к нарушениям проводимости сигнала и функции рецептора *TGFβ1*. Необходимы дальнейшие исследования для подтверждения

функциональной роли мутации Y229S в развитии сердечно-сосудистых заболеваний.

Нами также обнаружена ранее описанная в литературе трансверсия G на A в +24 позиции донорного сайта сплайсинга, расположенного в 7-м интроне гена *TGFBR1* (с.1024+24G>A, rs334354). Мы провели анализ полиморфного варианта с.1024+24G>A гена *TGFBR1* в группе здоровых индивидов. Выявлено схожее распределение частот аллелей и генотипов исследуемого локуса в выборке больных и контроля. Статистически значимых различий в распределении частот генотипов между группами сравнения не обнаружено.

При иммуногистохимическом изучении выявлено статистически значимое увеличение количества рецептора TGFβR1 в миокарде больных с выраженной ГЛЖ в сравнении с группой контроля ($p < 0,00275$). У больных с концентрической формой ремоделирования сердца определена значимая корреляционная зависимость между гипертрофическими изменениями кардиомиоцитов и повышенным уровнем рецептора TGFβR1 ($r = 0,511$, $p < 0,05$), а также между явлениями кардиосклероза и массой сердца ($r = 0,611$; $p < 0,05$). У больных с эксцентрической формой ремоделирования сердца установлена статистически значимая положительная корреляция между гипертрофией кардиомиоцитов и распространенностью кардиосклероза в миокарде ($r = 0,831$; $p < 0,02$), а также между гипертрофией кардиомиоцитов и количеством рецептора TGFβR1 ($r = 0,895$;

$p < 0,05$). Выявлена статистически значимая положительная корреляция между количеством рецептора TGFβR1 и гипертрофией кардиомиоцитов у больных с выраженной гипертрофией ЛЖ ($r = 0,511$, $p < 0,05$), такая же корреляционная зависимость определялась у больных дилатационной кардиомиопатией ($r = 0,451$, $p < 0,05$), а также с массой сердца ($r = 0,522$, $p < 0,05$) в данной группе больных.

Заключение

Таким образом, впервые проведены анализ нуклеотидной последовательности экзонов гена *TGFBR1* и иммуногистохимический анализ количества рецептора TGFβR1 в миокарде. Выявлены две миссенс-мутации, одна из которых обнаружена впервые, две синонимичные замены и полиморфный вариант сайта сплайсинга в гене *TGFBR1*. Установлено статистически значимое увеличение количества рецептора TGFβR1 в миокарде больных ХСН и обнаружена положительная корреляция между количеством рецептора и гипертрофией кардиомиоцитов.

Литература

1. Guo X., Chen S.-Y. Transforming growth factor-β and smooth muscle differentiation // *World. J. Biol. Chem.* 2012. V. 26 (3). P. 41–52.
2. Moustakas A., Heldin C.H. The regulation of TGFβ signal transduction // *Development.* 2009. V. 136. P. 3699–3714.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

С.Н. Пчелина

Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», г. Гатчина
Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова, г. Санкт-Петербург

Болезнь Паркинсона (БП) является распространенным нейродегенеративным заболеванием. Ключевым событием в патогенезе заболевания является агрегация белка альфа-синуклеина. В настоящее время при отсутствии лабораторных диагностических тестов диагноз БП ставится при дегенерации около 80% дофаминергических нейронов черной субстанции мозга, что затрудняет поиск подходов для нейропротекторной терапии.

Цель исследования – изучение молекулярных механизмов развития БП, а также поиск генетических и биохимических маркеров развития заболевания.

Материалы и методы

В исследование вошли 450 пациентов с БП, обследованных в клиниках ПСПбГМУ им. академика И.П. Павлова и в центре нейродегенеративных заболеваний клиники ИЭМ, (г. Санкт-Петербург). Нами был осуществлен скрининг мутаций в генах *SNCA*, *LRRK2*, *GBA*. У пациентов с ранней формой заболевания, не принимавших лечения препаратами L-ДО-

ФА, а также в группах пациентов с БП различной этиологии проведена оценка уровня общего и олигомерного (нейротоксичные формы) альфа-синуклеина в плазме и клетках крови.

Результаты

Показано, что мутация G6055A(G2019S)*LRRK2* – наиболее распространенная причина развития наследственных форм. Мутации в гене глюкоцереброзидазы (*GBA*) являются наиболее распространенным и значимым фактором высокого риска развития БП, повышая риск развития заболевания 7 раз. Впервые у носителей мутаций в гене *GBA* на фоне снижения активности *GBA* показаны накопление мелабиолита, глюкозилсфингозина и повышение олигомерных форм альфа-синуклеина в плазме крови, что дает основание предполагать молекулярный механизм развития *GBA*-ассоциированной БП и открывает перспективы для разработки подходов к терапии данной формой заболевания с использованием субстрат-редуцирующей терапии и (или) фармакологических шаперонов *GBA*.

In vitro разработан подход к культивированию макрофагов пациентов с мутациями в гене *GBA* (пациенты с болезнью Гоше). Показано, что используемый объект исследования отражает метаболические нарушения и может быть применен для скрининга потенциальных активаторов *GBA*. Для спорадической формы БП показано, что оценка уровня олигомерного альфа-синуклеина в CD45 клетках крови может быть перспективным маркером заболевания.

Предложенный алгоритм молекулярно-генетического обследования позволяет выявлять наследственные формы БП, формировать группы высокого риска развития заболевания. Полученные результаты открывают перспективу для разработки нейропротекторной терапии заболевания.

Исследование поддержано грантами РФФИ № 16-04-00764 А; и 16-54-76009 ЭРА_а.

ЭВОЛЮЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РОЛИ РЕГУЛЯТОРНЫХ УЧАСТКОВ ГЕНА *NDRG1* В ФОРМИРОВАНИИ СТРУКТУРЫ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ПРЕЭКЛАМПСИИ В ПОПУЛЯЦИЯХ РАЗЛИЧНОГО ЭТНИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

В.Н. Сереброва, Е.А. Трифонова, В.А. Степанов

НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

Изучение адаптивных изменений в человеческом геноме, возникших в условиях новой среды обитания в результате доисторических миграций за пределы Африки, необходимо для понимания процессов формирования генетического разнообразия в современных популяциях, оценки роли их фенотипических проявлений в развитии болезней и здоровья современного человека, а также может рассматриваться в качестве способа обнаружения «упущенной наследуемости» при многофакторных заболеваниях (МФЗ). В представленной работе эволюционный подход к анализу генетической архитектуры МФЗ конкретизирован в отношении преэклампсии (ПЭ) – одного из наиболее тяжелых гипертензивных расстройств беременности. В настоящее время в связи с ведущей ролью плаценты в этиопатогенезе ПЭ наиболее перспективным подходом для характеристики молекулярных механизмов данной патологии является изучение вариабельности уровня экспрессии генов плацентарной ткани и механизмов регуляции данных изменений, также представляет определенный интерес рассмотрение с эволюционной точки зрения генетической структуры предрасположенности к данной патологии по системе генов, вовлеченных в молекулярные процессы, происходящие в плацентарной ткани.

Цель исследования – изучение генетической компоненты преэклампсии по системе регуляторных полиморфных вариантов (rSNP) нового гена-кандидата *NDRG1* и выявление роли естественного отбора в ее формировании.

Материалы и методы

В исследование включено 1 270 образцов ДНК женщин из трех этнических групп: буряты (группа больных ПЭ, $N = 140$ чел., контрольная группа, $N = 205$ чел.), русские (группа больных ПЭ, $N = 195$ чел., контрольная группа, $N = 303$ чел.), якуты (группа больных ПЭ, $N = 217$ чел., контрольная группа, $N = 210$ чел.). В работе изучено четыре rSNP нового гена-кандидата *NDRG1*, ассоциированного с развитием ПЭ по данным анализа транскриптома плацентарной ткани. Генотипирование проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии с использованием

мультиплексной ПЦР. Соответствие распределения частот аллелей и генотипов равновесию Харди–Вайнберга проверяли по критерию χ^2 . Парное сравнение частот аллелей и генотипов между группами проводили с помощью критерия χ^2 с поправкой Йейтса или точного критерия Фишера. Для оценки ассоциации rSNP с ПЭ вычисляли отношение шансов (OR) и его 95%-ный доверительный интервал (95% CI). Обнаружение сигналов естественного отбора на макроэволюционном уровне проводилось в эволюционной линии парвотряда *Catarrhini* (человек, шимпанзе, орангутан, макака) с использованием онлайн-ресурса INSIGHT. Проведение настоящего исследования одобрено комитетом по биомедицинской этике НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

Результаты

В представленной работе был проведен эволюционно-генетический анализ роли регуляторных полиморфных вариантов нового гена-кандидата *NDRG1* в формировании структуры наследственной предрасположенности к ПЭ. В таблице представлена краткая характеристика полученных результатов. Анализ распределения частот аллелей и генотипов четырех rSNP исследуемого гена показал статистически значимую ассоциацию с развитием ПЭ для трех rSNP: rs12678229 в этнической выборке бурятов; rs2227262 и rs3802252 в этнической выборке якутов. Поиск сигналов естественного отбора в эволюционной линии парвотряда *Catarrhini* выявил действие слабого очищающего отбора, направленного на регуляторный полиморфный вариант rs2227262.

Продуктом гена *NDRG1* является цитоплазматический белок суперсемейства гидролаз, который может играть цитопротективную роль в нормальных здоровых клетках. Повышенный уровень экспрессии гена *NDRG1* в условиях гипоксии способствует дифференцировке и уменьшению степени повреждения клеток трофобласта, что согласуется с результатами нескольких исследований транскриптома плацентарной ткани, демонстрирующих повышение уровня экспрессии гена *NDRG1* при ПЭ.

Краткая характеристика полученных результатов

rSNP	Локализация в гене	Значение «score»	ПА	Ассоциация с развитием ПЭ	Вид отбора
rs12678229	Интрон	1f	G	Генотип GG ($p = 0,04$) и аллель G ($p = 0,02$) у бурят	–
rs2227262	Интрон	2b	C	Аллель C ($p = 0,01$) у якутов	Слабый очищающий отбор ($p < 0,01$)
rs2977559	Интрон	1f	A	–	–
rs3802252	Интрон	1f	T	Генотип TT ($p = 0,01$) и аллель T ($p = 0,02$) у якутов	–

Примечание. Значение «score» базы данных RegulomeDB, характеризующее степень доказательности регуляторности SNP, обозначено цифровыми и буквенными символами. Наибольшими регуляторными свойствами обладают rSNP со значением «score» равным 1a (регуляторные свойства уменьшаются с увеличением цифрового значения и в алфавитном порядке). Локализация rSNP определена согласно данным базы NSBI. ПА – предковый аллель.

Результаты недавних исследований показали различия инвазивных свойств плаценты в линии предков человекообразных обезьян. Так, для представителей подсемейства Homiidae (человека, шимпанзе, гориллы, орангутана) характерны наибольшая степень инвазии трофобласта и ремоделирование спиральных артерий на более глубоких уровнях миометрия. Важно отметить, что развитие ПЭ характерно, прежде всего, для человека, однако имеются редкие сообщения о возникновении данной патологии у обезьян: горилл, шимпанзе, макака. Выявленное в нашем исследовании действие слабого очищающего отбора свидетельствует о консервативном характере регуляторного полиморфного варианта rs2227262 в ряду представителей эволюционной линии парвотряда Catarrhini. Такой тип отбора способствует удержанию производных аллелей на низком уровне. Примечательно, что ассоциация с развитием ПЭ для данного полиморфного варианта показана в этнической выборке якутов для предкового аллеля C, в то время как производный аллель T обладает протективными свойствами. Можно предположить, что предковый аллель C регуляторного полиморфного варианта rs2227262 обеспечивает не-

обходимый уровень экспрессии гена *NDRG1* в условиях гипоксии при неглубокой инвазии трофобласта, однако для представителей семейства Homiidae ее уровень может быть недостаточным, поскольку вследствие увеличения инвазивных свойств плаценты клетки трофобласта более часто подвергаются действию гипоксии, что приводит к их повреждению и, как следствие, к развитию ПЭ.

Таким образом, полученные результаты указывают на значимую роль наследственной вариативности регуляторных участков нового гена-кандидата *NDRG1* в развитии подверженности к ПЭ в популяциях различного этнического происхождения, а также на возможный вклад слабого очищающего отбора в формирование генетической компоненты ПЭ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 14-04-01467). Экспериментальные исследования проведены на базе Центра коллективного пользования научно-исследовательским оборудованием и экспериментальным биологическим материалом «Медицинская геномика» (НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ).

СТРУКТУРНАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ГЕНОМА МАКРОФАГОВ И ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК В АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШКАХ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ

А.А. Слепцов¹, М.С. Назаренко^{1,2}, Н.А. Скрябин¹, Е.В. Денисов³,
Л.А. Таширева³, И.Н. Лебедев^{1,2}, В.П. Пузырёв^{1,2}

¹ НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

² Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск

³ НИИ онкологии Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

Как известно, атеросклеротическое поражение артерий имеет отдельные черты неопластического процесса и характеризуется клональным ростом клеток вследствие возникающих серий соматических мутаций [1, 2]. Тем не менее специфические хромосомные aberrации в клетках, участвующих в атерогенезе, не были обнаружены [3]. Однако обращает на себя внимание, что результаты предыдущих исследований получены с использованием культивирования клеток или поиска мутаций в гомогенате артерий [4]. Существующие в настоящее время технологии позволяют анализировать геном единичных

клеток, что предоставляет возможность оценить числовые и структурные хромосомные aberrации в макрофагах и гладкомышечных клетках, выделенных из атеросклеротически измененных артерий.

Материалы и методы

В выборку включены восемь пациентов с клинически выраженным атеросклерозом, от которых получены образцы крови и атеросклеротических бляшек из коронарных артерий в результате аутопсии. Выделение ДНК из лейкоцитов крови выполнено с

помощью QIAamp DNA Micro Kit (Qiagen). Образцы артерий окрашивались иммуногистохимически с использованием моноклональных антител к рецептору CD68 макрофагов (клон KP1, RTU, Dako) и к α -актину гладкомышечных клеток (клон 1A4, SMA, Sigma). Далее произведена лазерно-захватывающая микродиссекция позитивно-окрашенных клеток. Для полногеномной амплификации (WGA) образцов использовался набор PicoPLEX WGA Kit (Rubicon Genomics) с последующей матричной сравнительной геномной гибридизацией (aCGH) на микрочипах SurePrint G3 Human CGH 8x60K (Agilent Technologies), где образец ДНК лейкоцитов крови пациента использовался в качестве референса.

Исследования выполнены на базе Центра коллективного пользования научно-исследовательским оборудованием и экспериментальным биологическим материалом «Медицинская геномика» НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

Результаты

В макрофагах атеросклеротических бляшек идентифицировано 9 трисомий (по хромосомам 2, 10, 12, 14, 15, 22 и X) и 3 моносомии (по хромосомам 4, 12 и X), в то время как в гладкомышечных клетках выявлено 8 моносомий (по хромосомам 12, 13, 16, 17, 18, 20 и X) и трисомия по хромосоме 12. При этом у двух пациентов гладкомышечные клетки имели нормальный кариотип. У трех пациентов в макрофагах выявлена трисомия по хромосоме 22, а два пациента в гладкомышечных клетках имели моносомию по хромосоме 18, тогда как другие анеуплоидии регистрировались в единичных случаях.

Всего в макрофагах из атеросклеротических бляшек идентифицировано 59 структурных вариаций (в среднем на образец приходилось 7 вариаций), а в гладкомышечных клетках – 32 (в среднем – 4 на образец). Соотношение амплификаций и делеций в макрофагах и гладкомышечных клетках было 1 : 0,8 и 1:7 соответственно.

Анализ повторяемости структурных вариаций между пациентами показал, что в большинстве случаев наблюдались единичные и редко повторяющиеся (не более двух случаев) события, как в макрофагах, так и в гладкомышечных клетках. Тем не менее в макрофагах амплификация короткого плеча хромосомы 9 выявлена у трех пациентов. Амплификация в хромосомном субсегменте 9q34.13–q34.2 размером

около 2 млн. п.о обнаружена в макрофагах у шести пациентов. Данная амплификация затрагивает около 20 генов, среди которых потенциально связанным с атеросклерозом является ген *TSC1*, классифицируемый как ген-супрессор опухоли.

Заключение

В результате aCGH анализа выявлено, что в исследуемых клетках детектируются разнообразные числовые и структурные хромосомные aberrации. В макрофагах, полученных из атеросклеротической бляшки, обнаружены анеуплоидии с преобладанием трисомий, в то время как в гладкомышечных клетках преимущественно регистрировались моносомии. Среди структурных вариаций выявлено значительное (7-кратное) преобладание делеций в гладкомышечных клетках, тогда как в макрофагах наблюдалось приблизительно равное соотношение амплификаций и делеций (1 : 0,8). Амплификация в хромосомном субсегменте 9q34.13–q34.2 содержит гены, которые потенциально могут быть связаны с атеросклерозом. В частности, ранее было показано, что белковый продукт гена *TSC1* контролирует функцию и поляризацию фенотипа M1/M2 макрофагов, а также играет роль в контроле иммунновоспалительного ответа [5, 6].

Исследование поддержано грантом РФФ (№ 14-15-00305).

Литература

1. Weakley S.M., Jiang J., Kougiaris P. et al. Role of somatic mutations in vascular disease formation // *Expert. Rev. Mol. Diagn.* 2010. V. 10, № 2. P. 173–185.
2. Benditt E.P., Benditt J.M. Evidence for a monoclonal origin of human atherosclerotic plaques // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1973. V. 70, № 6. P. 1753–1756.
3. Cervelli T., Borghini A., Galli A. Andreassi MG. DNA Damage and Repair in Atherosclerosis: Current Insights and Future Perspectives // *International Journal of Molecular Sciences.* 2012. V. 13, № 12. P. 16929–16944.
4. Matturri L., Cazzullo A., Turconi P. et al. Chromosomal alterations in atherosclerotic plaques // *Atherosclerosis.* 2001. V. 154, № 3. P. 755–761.
5. Zhu L., Yang T., Li L. et al. TSC1 controls macrophage polarization to prevent inflammatory disease // *Nat. Commun.* 2014. V. 5. P. 4696.
6. Fang C., Yu J., Luo Y. et al. Tsc1 is a Critical Regulator of Macrophage Survival and Function // *Cell Physiol. Biochem.* 2015. V. 36, № 4. P. 1406–1418.

ГИПОКСИЯ-ИНДУЦИБЕЛЬНЫЙ ФАКТОР: ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ И ВЗАИМОСВЯЗЬ С РАЗВИТИЕМ МУЛЬТИФАКТОРИАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ

В.О. Солдатов, В.А. Солдатова, О.Ю. Бушуева

Курский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Курск

Гипоксия является одним из типичных патологических процессов и участвует в патогенезе большинства известных заболеваний [1]. Ключевым регулятором кислородного гомеостазиса в организме является система гипоксия-индуцибельного фактора (HIF). Данная молекула была открыта в ходе рас-

шифровки механизмов регуляции синтеза эритропоэтина [2]. В дальнейшем стало понятно, что функция HIF не ограничивается влиянием на эритропоэз и что его экспрессия широкого распространена в разных тканях. Кроме того, были открыты еще два фактора со схожим строением и физиологической

ролью, но с более специфичной локализацией, поэтому молекулам были присвоены индексы (HIF-1, HIF-2, HIF-3).

Если рассматривать систему на примере HIF-1, то его молекула построена из двух субъединиц: а- и в-. Для в-субъединицы, также известной как ядерный переносчик арилгидрокарбонового рецептора (ARNT), характерны ядерная локализация и перманентный уровень концентрации. HIF-1а-субъединица расположена в цитоплазме и обладает более сложной динамикой существования в связи с тем, что она подвержена посттрансляционным модификациям, которые делают ее доступной для убиквитинирования [3]. Данные модификации осуществляются двумя кислородзависимыми ферментами: пролилгидроксилазой и аспарагингидроксилазой. Именно их высокая чувствительность к уровню кислорода определяет увеличение периода распада HIF-1а при гипоксической кондиции. В связи с повышением концентрации HIF-1а (не подвергшегося убиквитинированию) повышается вероятность его попадания в ядро, где он связывается с ARNT. Этот комплекс соединяется еще с двумя кофакторами и взаимодействует с ДНК, регулируя экспрессию генов-мишеней. Индукцию HIF могут обеспечивать и негипоксические стимулы, например цитокины или липополисахарид. Считается, что спектр влияния системы включает от нескольких сотен до тысячи генов, обеспечивающих адаптацию к острой и хронической гипоксии и некоторые другие функции. Активация этих генов приводит к таким эффектам, как: 1) угнетение митохондриального дыхания и активация анаэробного гликолиза; 2) повышение кислородной емкости крови; 3) увеличение плотности сосудистой сети [4]. В некоторых случаях активация HIF-1 сопряжена с про- и противовоспалительными реакциями, клеточным апоптозом. Кроме того, нокаут HIF-1а в периоде внутриутробного развития приводит к гибели плода в мышечных моделях, что свидетельствует о его важной роли в раннем онтогенезе [5]. В целом при кислородном дефиците реакция клетки на индукцию HIF-1а зависит от ее типа и от степени гипоксии.

Что касается генетических аспектов, фундаментальная значимость HIF для развития и функционирования организма определяет высокую консервативность молекулы и низкую нуклеотидную

вариабельность ее гена. Но при некоторых фенотипических особенностях вариации в активности HIF могут заключать в себе полезные свойства. Например, при канцерогенезе и ожирении высокая активность HIF является негативным фактором, а при заболеваниях, связанных с ишемией или окислительным стрессом, – позитивным. На данный момент у человека обнаружено 16 однонуклеотидных замен (SNP) в гене *HIF-1a* и 20 – в *HIF-1b*. Для разных SNP были показаны ассоциации с различными формами ишемической болезни сердца, злокачественных опухолей, сахарным диабетом 2-го типа, эритроцитозом, системным склерозом, хронической обструктивной болезнью легких, системным склерозом, преэклампсией, остеоартрозом, остеонекрозом, а также выносливостью и способностью адаптироваться к высокогорью [6].

Таким образом, HIF является перспективным объектом для изучения. Обзор ключевых узлов функционирования HIF показывает его тесную связь со многими клеточными процессами. Влияние генетического полиморфизма *HIF-1a* на подверженность большому спектру различных заболеваний указывает на его значимость для современной медицинской науки.

Литература

1. Литвицкий П.Ф. Патолофизиология. 2-е изд. М.: ГЭОТАР-МЕД, 2003. Т. 1. С. 478.
2. Semenza G.L., Wang G.L. A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation // Molecular and cellular biology. 1992. V. 12, № 12. P. 5447–5454.
3. Wang G.L., Jiang B.H., Rue E.A., Semenza G.L. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension // Proceedings of the national academy of sciences. 1995. V. 92, № 12. P. 5510–5514.
4. Semenza G.L. Regulation of oxygen homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 // Physiology. 2009. V. 24, № 2. P. 97–106.
5. Compernelle V., Brusselmans K., Franco D. et al. Cardiac bifida, defective heart development and abnormal neural crest migration in embryos lacking hypoxia-inducible factor-1a // Cardiovascular research. 2003. V. 60, № 3. P. 569–579.
6. Gladek I., Ferdin J., Horvat S. et al. HIF1A gene polymorphisms and human diseases: Graphical review of 97 association studies // Genes, Chromosomes and Cancer. 2017. V. 56 (6). P. 439–452.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ИНТРАКРАНИАЛЬНЫХ АНЕВРИЗМ У НАСЕЛЕНИЯ ВОЛГО-УРАЛЬСКОГО РЕГИОНА РОССИИ

Р.И. Султанова¹, Р.И. Хусаинова^{1,2}, Е.Р. Лебедева³, Э.К. Хуснутдинова^{1,2}

¹ Башкирский государственный университет, г. Уфа

² Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г. Уфа

³ Международный центр лечения головных болей Европа–Азия, г. Екатеринбург

Интракраниальная аневризма (ИА) – гетерогенное заболевание многофакторной природы, приводящее к спонтанным субарахноидальным кровоизлияниям (САК) вследствие разрыва. Ежегодная частота САК в мире достигает 6 случаев на 100 тыс. населения, в России варьирует от 6 до 19,4 на 100 тыс. человек [1, 2]. В основе заболевания лежат патологические изменения в строении сосудистой

стенки артерий в области бифуркаций, где чаще всего образуются аневризмы. В различных странах мира данное заболевание у населения встречается с частотой от 1 до 8% [3]. Патогенез интракраниальных аневризм представляет сложный процесс, имеющий генетическую основу, в который вовлечено множество различных факторов. Нарушение любого этапа формирования сосудов и ремоделирования,

а также регулирования сосудистого тонуса приводит к развитию заболевания.

Поиск эффективных способов прогнозирования возникновения ИА до развития САК является актуальной проблемой здравоохранения на сегодняшний день. Известно относительно небольшое число генов, участвующих в патогенезе аневризм. Обнаружена значимость полиморфных вариантов генов, продукты которых вовлечены в сигнальные пути трансформирующего фактора роста бета, серин-треонин киназ, хемокинов, нейротрофина, участвующих в клеточном цикле, локальной адгезии, апоптозе, и генов, играющих ключевую роль в ремоделировании тканей, ангиогенезе, пролиферации, миграции и дифференциации клеток, а также в развитии болезнетворных процессов [4–6]. Поиск генетических маркеров для ранней ДНК-диагностики заболевания представляется ключевым звеном профилактики ИА.

Цель исследования – изучение 37 ДНК-локусов с использованием трех подходов: поиска изменений нуклеотидной последовательности, анализа полиморфных вариантов кандидатных генов, а также репликации результатов GWAS исследований.

Материалы исследования

Материалом для исследования послужили образцы ДНК 311 больных с ИА и 284 практически здоровых индивидов в качестве контрольной выборки, русской этнической принадлежности, проживающих в Волго-Уральском регионе России. Все участники исследования являлись пациентами регионального сосудистого центра нейрохирургии ГКБ № 40 г. Екатеринбурга. В исследование включены пациенты, у которых диагностирована аневризма, и после ее разрыва и хирургического лечения. Для включенных в исследование индивидов были получены сведения об этнической принадлежности, возрасте, количестве аневризм и их локализации, наследственном статусе, потреблении алкоголя, курении, а также данных о наличии сопутствующих заболеваний, таких как артериальная гипертензия (АГ) и недифференцированная дисплазия соединительной ткани (НДСТ).

Результаты

В результате поиска структурных изменений генов *TGFB1*, *TGFB1*, *TGFB2* обнаружено 16 типов конформационного полиморфизма в 9 регионах изученных генов. Идентифицированы два полиморфных варианта в гене рецептора 2-го фактора роста (*TGFB2*): rs1155705 (с.3+7A>G), для которого генотип *G*G ассоциирован с риском развития аневризм сосудов головного мозга ($\chi^2 = 13,36$; $p = 0,0003$; $OR = 2,94$; 95% *CI*: 1,64–5,30), и с.452–4T>A, последний из них описан впервые; трансверсия rs334354 (с.1024+24G>A) в гене рецептора 1 трансформирующего фактора роста (*TGFB1*); две синонимичные замены (с.933C>T, p.Ile311Ile и с.873G>A, p.Ile291Ile) и полиморфные варианты с.713–8delC, rs8179181 (с.861–20C>A), –509T>C (с.–1347T>C, rs1800469) в гене трансформирующего фактора роста *TGFB1* у пациентов с ИА. Генотипы *T*T полиморфизма –509T>C (с.–1347T>C, rs1800469) и *C*C полиморфизма rs8179181 (с.861–20C>A) гена *TGFB1* ока-

зались протективными маркерами риска развития аневризм. Необходимо продолжить исследования для уточнения функциональной значимости идентифицированных структурных изменений с ИА.

В результате исследования кандидатных генов обнаружена ассоциация генотипа *2G*2G полиморфного варианта rs1799750 гена *MMP1* с риском развития ИА как в общей выборке ($\chi^2 = 17,63$; $p = 0,00002$; $OR = 2,11$; 95% *CI*: 1,48–2,99), так и при разделении выборки по гендерным различиям: у мужчин ($p = 0,0004$; $\chi^2 = 12,42$; $OR = 2,54$, 95% *CI*: 1,51–4,30) и женщин ($\chi^2 = 5,75$; $p = 0,01$; $OR = 1,78$; 95% *CI*: 1,11–2,86). Генотип *T*T полиморфного варианта rs243865 гена *MMP2* ($\chi^2 = 3,68$; $p = 0,05$; $OR = 1,38$, 95% *CI*: 0,99–1,92) также оказался маркером повышенного риска развития ИА.

При репликативных исследованиях результатов GWAS подтверждена значимость локуса rs594942 гена *VEGFB* в развитии ИА у женщин, генотип *C*C оказался рискованным ($\chi^2 = 12,08$; $p = 0,005$; $OR = 2,25$; 95% *CI*: 1,42–3,57), а генотип *C*T – протективным ($\chi^2 = 6,12$; $p = 0,01$; $OR = 0,57$; 95% *CI*: 0,37–0,89). При исследовании rs308395 гена *FGF2* генотип *C*G оказался рискованным для развития ИА у мужчин ($\chi^2 = 4,75$; $p = 0,02$; $OR = 1,92$; 95% *CI*: 1,06–3,46), генотип *C*C – протективным ($\chi^2 = 4,35$; $p = 0,03$; $OR = 0,55$, 95% *CI*: 0,31–0,97). Генотип *T*T rs2000708 гена *SMAD2* оказался рискованным в общей выборке ($\chi^2 = 3,96$; $p = 0,04$; $OR = 1,51$; 95% *CI*: 1,00–2,26) и группе женщин с ИА ($\chi^2 = 3,96$; $p = 0,04$; $OR = 1,51$; 95% *CI*: 1,00–2,26), тогда как протективным маркером в исследуемых группах стал генотип *C*T ($\chi^2 = 6,27$; $p = 0,01$; $OR = 0,61$; 95% *CI*: 0,41–0,90 и $\chi^2 = 6,74$; $p = 0,0009$; $OR = 0,48$; 95% *CI*: 0,28–0,84 соответственно). Нами также проведен поиск ассоциаций полиморфных вариантов rs2289263 и rs6494629 гена *SMAD3* с развитием ИА с учетом наличия симптомокомплекса НДСТ и АГ. Генотип *C*C локуса rs6494629 является маркером повышенного риска ИА у женщин в сочетании с НДСТ ($\chi^2 = 4,3$; $p = 0,03$; $OR = 2,38$; 95% *CI*: 1,03–5,48), генотип *C*C полиморфного варианта rs2289263 ассоциирован с ИА у мужчин с АГ ($\chi^2 = 4,4$; $p = 0,03$; $OR = 2,19$; 95% *CI*: 1,04–4,59).

Таким образом, показана значимость локусов rs1155705 (с.3+7A>G) гена *TGFB2*, rs1799750 гена *MMP1*, rs243865 гена *MMP2*, rs594942 гена *VEGFB*, rs308395 гена *FGF2*, rs2000708 гена *SMAD2* в развитии ИА у жителей Волго-Уральского региона, а также rs2289263 и rs6494629 гена *SMAD3* ИА с НДСТ и АГ в коморбидном состоянии, что предполагает существование общих звеньев в патогенезе данных заболеваний. Необходимо проведение исследований с учетом наличия клинических проявлений дисплазии соединительной ткани и артериальной гипертензии.

Литература

1. Van Gijn J. Cerebral vasoconstriction, headache and sometimes stroke: one syndrome or many // *Brain*. 2007. V. 130, pt. 12. P. 3060–3062.
2. Лебедев В.В., Гельфенбейн М.С., Евзиков Г.Ю., Белозеров Г.Е. Микронейрохирургическое лечение при окклюзионных поражениях цереброваскулярной системы // *Материалы городского семинара нейрохирургов*. М., 1996. С. 9–13.

3. International Study of Unruptured Intracranial Aneurysms Investigators. Unruptured intracranial aneurysms – risk of rupture and risks of surgical intervention // *New England Journal of Medicine*. 1998. V. 339 (24). P. 1725–1733.
4. Peng G., Luo L., Siu H. et al. Gene and pathway-based second-wave analysis of genome-wide association studies // *Eur. J. Hum. Genet.* 2010. V. 18 (1). P. 111–117.
5. Bakir-Gungor B., Sezerman O.U. The identification of pathway markers in intracranial aneurysm using genome-wide association data from two different populations // *PLoS One*. 2013. V. 8 (3).
6. Takemura Y., Hirata Y., Sakata N. et al. Histopathologic characteristics of a saccular aneurysm arising in the non-branching segment of the distal middle cerebral artery // *Pathol. Res. Pract.* 2010. V. 206 (6). P. 391–396.

СВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *MTAP* С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ОСЛОЖНЕНИЙ САХАРНОГО ДИАБЕТА 1 И 2-ГО ТИПОВ

Н.В. Тарасенко^{1,2}, И.А. Гончарова^{1,3}, А.В. Марков¹, В.П. Пузырёв^{1,2}

¹ НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

² Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск

³ НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, г. Кемерово

Понятие «сахарный диабет» включает разные нозологические формы, объединенные общим симптомом, а именно хронической гипергликемией, которая сопровождается нарушением функционирования различных органов, особенно глаз, почек, нервов, кровеносных сосудов и сердца. Поиск генов, обладающих плейотропными эффектами при формировании различных фенотипов сахарного диабета и объясняющих патогенетические особенности их клинического проявления, является одной из важных задач медицинской генетики.

Цель исследования – поиск общих генетических маркеров, ассоциированных с осложнениями сахарного диабета 1-го (СД1) и 2-го (СД2) типов.

Материалы и методы

Изучено 58 полиморфных вариантов (SNPs) 47 генов, продукты которых участвуют в различных метаболических путях и вовлечены в процессы фиброгенеза, формирование эндотелиальной дисфункции, иммунного ответа и воспаления. Подробное описание панели, использованной для исследования, представлено ранее [1].

В данной работе был использован дизайн случай–контроль. Контрольная группа представляла собой популяционную выборку, состоящую из жителей г. Томска ($n = 300$) и включала 54% мужчин и 46% женщин (средний возраст $56,7 \pm 8,4$ лет). Группа больных СД1 включала 285 человек (47% мужчин и 53% женщин; средний возраст $25,27 \pm 12,60$ лет; средний возраст начала СД1 – $16,83 \pm 11,76$ лет); из них с диабетической ретинопатией – 148 человек, с диабетической нефропатией – 123, с диабетической нейропатией (ДН) – 114 человек. Группа больных СД2 состояла из 96 индивидуумов (44% мужчин и 52% женщин, средний возраст $61,8 \pm 9,9$ лет). У всех больных СД2 диагностировали макрососудистые осложнения (МСО) (ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия, инфаркт миокарда) и ожирение. По этнической принадлежности все обследованные являются русскими. Генотипирование выполнено с помощью масс-спектрометрии на приборе Sequenom MassARRAY (США). Статистическая обработка результатов исследования проводилась в программной среде R (версия 3.0.3) с использованием пакетов Stats и Genetics [2].

Исследования выполнены на базе Центра коллективного пользования научно-исследовательским оборудованием и экспериментальным биологическим материалом «Медицинская геномика» НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

Результаты

В результате проведенного исследования был выявлен полиморфный вариант rs7023329 гена *MTAP*, который показал ассоциации с диабетической нейропатией при СД1 и макрососудистыми осложнениями при СД2, которые имели однонаправленный характер. В группе больных СД1 с ДН с более высокой частотой (36,7%), чем в группе популяционного контроля (24,5%), регистрировался генотип AA ($p = 0,031$; $OR = 1,79$; 95% CI : 1,05–3,04), для аллеля А уровень статистической значимости достигнут не был ($p = 0,057$; $OR = 1,40$; 95% CI : 0,99–1,98). В группе больных СД2 с МСО статистически значимые различия наблюдались за счет более высокой частоты генотипа AA (36,8%) и аллеля А (61,5%) по сравнению с контрольной группой (24,5 и 49,8% соответственно): для генотипа AA $OR = 1,79$; 95% CI : 1,03–3,12 ($p = 0,027$) и для аллеля А $OR = 1,61$; 95% CI : 1,12–1,32 ($p = 0,008$) соответственно.

Ген метилтиоаденозин фосфорилазы (*MTAP*) расположен в локусе 9p21.3. Полиморфные варианты rs1333040, rs2383207, rs10116277 и rs10757278, локализованные в этом локусе, по результатам нескольких полногеномных исследований показали связь с сердечно-сосудистыми заболеваниями в европейских популяциях. Для полиморфных вариантов (в том числе и rs7023329, аллеля А), локализованных в гене *MTAP*, получены ассоциации с рядом онкологических заболеваний (гепатоцеллюлярной карциномой, колоректальной аденомой, остеосаркомой, меланомой, аденокарциномой и остеосаркомой кардиального отдела желудка), а также с ишемическим инсультом и риском ишемической болезни сердца у китайцев (rs10118757). Белковый продукт гена *MTAP* участвует в метаболизме энергии. Белок *MTAP* имеет следующие функции: реутилизация пуриновых оснований, метаболизм полиамина, регуляция клеточного цикла и апоптоза, уровня CD4+ Т-лимфоцитов, опухолевая супрессия, биосинтез метионина, образование гомоцистеина и таурина. Снижение

экспрессии МТАР является независимым маркером прогноза течения и выживаемости при различных видах рака (молочной железы, носоглотки, легких и др.), в том числе и поджелудочной железы.

Таким образом, можно предположить, что при развитии осложнений СД1 и СД2 значимую роль играют нарушения процессов обмена веществ и энергии в клетках, в которых в том числе принимает участие белковый продукт гена *МТАР*, относящийся к молекулярному классу фосфорилаз.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 16-04-00840 а).

Литература

1. Гончарова И.А., Кучер А.Н., Тарасенко Н.В. и др. Разработка панели генетических маркеров фиброгенеза и оценка её информативности для русского населения г. Томска // Медицинская генетика. 2015. Т. 14, № 8 (158). С. 7–12.
2. <http://www.R-project.org>.

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ТРИПТОФАНГИДРОКСИЛАЗЫ С КЛИНИЧЕСКОЙ КАРТИНОЙ ШИЗОФРЕНИИ

В.В. Тигунцев, А.В. Семке

НИИ психического здоровья Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

Шизофрения – тяжелое прогрессирующее психическое заболевание, характеризующееся нарушением единства психических процессов и ведущее к инвалидизации и социальной дезадаптации. Патогенез шизофрении до сих пор до конца не изучен, однако известны некоторые биохимические механизмы развития психотических симптомов. Эти симптомы, в свою очередь, делятся на позитивные и негативные. Позитивные симптомы представляют собой некую новую функцию высшей нервной деятельности (ВНД), появившуюся в результате болезни. Примеры позитивных симптомов – бред, галлюцинации, навязчивые идеи, психомоторное возбуждение. Негативными симптомами именуют исчезновение какой-либо естественной функции ВНД (слабоумие, апатия, эмоциональное оскудение) [1]. В отличие от позитивной, негативная симптоматика зачастую необратима и указывает на неблагоприятный прогноз заболевания. Серотонин – это нейромедиатор, участвующий в модуляции высших психических процессов, включая мышление и эмоциональное поведение [2]. Нарушения метаболизма серотонина играют весьма значительную роль в патогенезе психотических симптомов, поскольку одной из основных целей антипсихотических препаратов являются 5-HT_{2A} рецепторы серотонина [3]. В биосинтезе серотонина важную роль играет такой фермент, как триптофангидроксилаза, катализирующий перенос ОН-группы на 5-гидрокситриптофан. Следовательно, полиморфные варианты генов триптофангидроксилазы (*TPH1*, *TPH2*) могут вносить свой вклад в развитие ведущей симптоматики шизофрении.

Мы исследовали ассоциацию между полиморфными вариантами генов триптофангидроксилазы и клинической картиной шизофрении.

Материал и методы

Были обследованы 476 пациентов славянских национальностей Томской области, проходивших лечение в Томской областной клинической психиатрической больнице. Диагноз шизофрении ставился на основании диагностических критериев МКБ-10. В качестве группы сравнения была использована

выборка пациентов с позитивной симптоматикой. ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови стандартным фенол–хлороформным методом. Для генотипирования было выбрано 7 SNP в генах триптофангидроксилазы – *TPH1* (rs1800532, rs7933505, rs684302) и *TPH2* (rs7305115, rs4290270, rs1386494, rs1487278). Определение аллельных вариантов проводили методом real-time PCR со специфическими праймерами с использованием наборов SNP Genotyping Assay на приборе StepOnePlus (США).

Для статистической обработки данных использовался пакет программ SPSS 17.0. Распределение частот генотипов оценивалось при помощи критерия χ^2 , рассчитывался показатель отношения шансов (OR) и 95%-й доверительный интервал (95% CI).

Результаты

Было обнаружено, что полиморфный вариант rs1800532 в гене *TPH1* вносит значительный вклад в развитие преобладающей симптоматики шизофрении ($\chi^2 = 6,09$, $p = 0,05$). Отношение шансов для генотипа СА составило 1,57 (95% CI: 1,06–2,31), что показывает предрасполагающий эффект этого генотипа к развитию негативных симптомов (рис. 1).

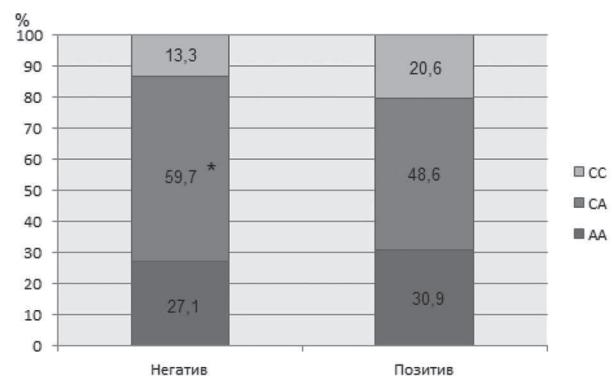


Рис. 1. Распределение частот генотипов по rs1800532 гена *TPH1* у пациентов с позитивной и негативной симптоматикой шизофрении

Также были выявлены статистически значимые различия между группами по частотам генотипов полиморфного варианта rs7933505 того же гена (рис. 2). Генотип AG продемонстрировал ассоциацию с негативной симптоматикой ($OR = 1,60$; 95% CI : 1,08–2,36; $\chi^2 = 6,38$; $p = 0,04$).

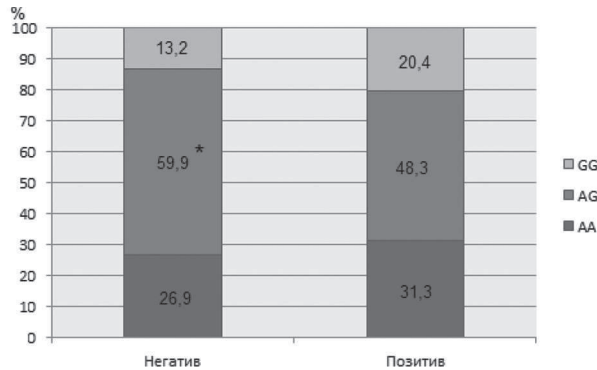


Рис. 2. Распределение частот генотипов по rs7933505 гена *TRN1* у пациентов с позитивной и негативной симптоматикой шизофрении

Других статистически значимых различий обнаружено не было.

Заключение

Полученные данные свидетельствуют о том, что полиморфные варианты генов триптофангидроксилазы вносят свой вклад в развитие той или иной клинической картины шизофрении. Результаты исследования согласуются с идеями о важной роли нарушений метаболизма серотонина в развитии психических расстройств и могут быть использованы для индивидуальной фармакотерапии пациентов.

Литература

1. Kumar A., Yadav M., Parle M. et al. Potential drug targets and treatment of schizophrenia // *Inflammopharmacology*. 2017. V. 25 (3). P. 277–292.
2. Ciranna L. Serotonin as a modulator of glutamate- and GABA-mediated neurotransmission: implications in physiological functions and in pathology // *Curr. Neuropharmacol.* 2006. V. 4. P. 101–114.
3. Pogorelov V.M., Rodriguez R.M., Cheng J. et al. 5-HT_{2C} Agonists Modulate Schizophrenia-Like Behaviors in Mice // *Neuropsychopharmacology*. 2017. <http://dx.doi.org/10.1038/npp.2017.52>.

ИНТЕГРИРОВАННЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОМНЫХ И ТРАНСКРИПТОМНЫХ ДАННЫХ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ НОВЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ПРЕЭКЛАМПСИИ

Е.А. Трифонова^{1,2}, Т.В. Габидулина², В.Н. Сереброва¹, Н.И. Ершов³, В.А. Степанов¹

¹ НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, г. Томск

² Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск

³ Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Стремительное развитие современных молекулярно-биологических и геномных технологий значительно расширило возможности поиска новых предикторов многофакторных заболеваний. Вследствие этого все большую актуальность приобретают исследования, проводимые в контексте системной биологии [1]. В представленной работе применялся один из таких подходов – интегративный анализ транскриптомных и геномных данных с целью характеристики молекулярных механизмов и идентификации перспективных генов-кандидатов одного из наиболее тяжелых гестационных осложнений – преэклампсии (ПЭ). Согласно современным представлениям, в развитии данной патологии ведущую роль играют нарушение инвазии цитотрофобласта в спиральные артерии матки и формирование синдрома ишемии-реперфузии в плаценте, в связи с чем изучение молекулярных процессов, происходящих в плацентарной ткани, рассматривается как наиболее перспективное направление исследований для раскрытия патофизиологических механизмов ПЭ [2, 3].

Полногеномный анализ экспрессионных профилей плацентарной ткани с помощью технологии микрочипов выявил 63 статистически значимо дифференциально экспрессирующихся гена (ДЭГ) между пациентками с преэклампсией и физиологической беременностью. Результаты функциональной аннотации этих генов свидетельствуют о ряде биологических процессов, играющих важную роль в

молекулярном патогенезе ПЭ: реакции, связанные с иммунным ответом, межклеточным взаимодействием, ответами на различные стимулы, процессы регуляции транскрипции с участием РНК-полимеразы II, регуляция апоптоза. Кроме того, в настоящей работе были выявлены особенности дифференциальной экспрессии генов в зависимости от степени тяжести ПЭ и получены доказательства важной роли молекулярных механизмов, обуславливающих нарушения иммунологической толерантности и запуск провоспалительного каскада в развитии тяжелой формы данной патологии. Интеграция данных функциональной аннотации ДЭГ, анализа сетевых взаимодействий белков, кодируемых этими генами, и изучения транскриптома плацентарной ткани позволяют выделить ряд новых генов, потенциально связанных с ПЭ: *LEP*, *SIGLEC6*, *BHLHE40*, *BCL6*, *RDH13*, *HSPH1*, *HSPA1A*, *BAG3*, *KRT19*, *RAC2*, *LIMCH1*, *PTGFRN*, *ALOX5*, *ABHD5*, *FAM190B*, *FAM84B*, *CYP19A1*, *BCL6* и *LCP1*, которые могут рассматриваться в качестве новых биологических маркеров ПЭ и представляют интерес для дальнейшего изучения на геномном уровне.

Так, сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов 85 полиморфных маркеров наиболее значимых ДЭГ между пациентками с ПЭ ($N = 552$) и женщинами с физиологической беременностью ($N = 721$) выявил ассоциацию с развитием ПЭ 29 полиморфных вариантов следующих

генов: *ANKRD37*, *BHLHE40*, *CORO2A*, *DGKG*, *GPT2*, *HK2*, *INHA*, *LEP*, *LHB*, *NDRG1*, *PLIN2*, *PPP1R12C*, *SASH1*, *SIGLEC6*, *SYDE1* и *ZNF175*. Кроме того, показано наличие как общности, так и специфичности генетической архитектуры преэклампсии в трех популяционных выборках (русские, якуты и буряты) по системе изученных полиморфных вариантов генов, а также выявлена значимая роль регуляторных участков генома человека в подверженности к ПЭ.

Таким образом, в представленной работе на примере ПЭ применен системный подход к поиску генетических маркеров МФЗ, основанный на комбинации геномных, транскриптомных и биоинформатических методов. Данный подход показал свою эффективность и может быть использован для обна-

ружения новых потенциальных генетических маркеров в генах, вовлеченных в патогенез заболевания, уменьшая долю «упущенной наследуемости» при многофакторных болезнях.

Литература

1. Sun Y.V., Hu Y.J. Integrative Analysis of Multi-omics Data for Discovery and Functional Studies of Complex Human Diseases // *Adv. Genet.* 2016. V. 93. P. 147–190.
2. Cuffe J.S.M., Holland O., Salomon C. et al. Review: Placental derived biomarkers of pregnancy disorders // *Placenta.* 2017. V. 54. P. 104–110.
3. Amaral L.M., Wallace K., Owens M., LaMarca B. Pathophysiology and Current Clinical Management of Preeclampsia // *Curr. Hypertens. Rep.* 2017. V. 19 (8). P. 61.

КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОМОРБИДНОСТИ ОСТЕОАРТРОЗА И ДИСПЛАЗИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ У ЖЕНЩИН ИЗ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

А.В. Тюрин¹, Д.А. Шаповалова², Р.И. Хусаинова²

¹ Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Уфа

² Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г. Уфа

Заболевания опорно-двигательного аппарата входят в тройку наиболее распространенных патологий, значительно снижая качество жизни пациентов и уменьшая ее продолжительность. Основой их развития являются деструктивные изменения в структуре кости, суставного хряща, связок и сухожилий. Так как данные ткани являются производными соединительной ткани, их патология, вероятно, имеет общие наследственно обусловленные механизмы. Различные варианты генетически обусловленных нарушений строения и функционирования соединительной ткани носят название дисплазии соединительной ткани (ДСТ) [1]. Чаще встречается недифференцированный вариант ДСТ, характеризующийся набором ряда фенотипических признаков. Представляет интерес исследование сочетания НДСТ с другими болезнями опорно-двигательного аппарата. Наиболее распространенной патологией этой группы является остеоартроз (ОА) [2], частота встречаемости которого растет. Чрезвычайно актуальным является внедрение в клиническую практику современных и эффективных методов ранней диагностики ОА, в том числе ДНК-диагностики.

Цель исследования – комплексная оценка клинико-генетических аспектов изолированных и сочетанных остеоартроза и НДСТ у женщин из республики Башкортостан с учетом возраста дебюта ОА, его локализации и этнической принадлежности пациентов.

Материалы

Материалом для исследования послужили образцы крови 333 женщин в возрасте от 18 до 61 года ($48,4 \pm 4,7$ лет) с первичным ОА, установленным в соответствии с критериями Американской ассоциации ревматологов (1995); наличие ДСТ диагностировалось при сумме баллов согласно диагностической таблицы Т.И. Кадуриной [3] более 8. Проведено исследование 10 полиморфных вариантов 6 кандидат-

ных генов ОА (*COL2A1*, *VDR*, *MMP1*, *MMP3*, *MMP13*, *GDF5*).

Результаты

Установлено, что у 26,3% пациенток терапевтического профиля встречается ОА и у 26% – ДСТ. Частота встречаемости ОА в сочетании с ДСТ составила 58,9%, увеличиваясь с возрастом от 22,8% у лиц моложе 40 лет до 90% у женщин старше 60 лет.

При исследовании встречаемости фенотипических признаков ДСТ у больных ОА висцероптозы были ассоциированы с наличием коксартроза; варикозная болезнь нижних конечностей, плоскостопие, деформации позвоночника – гонартроза; кожная гиперэластичность, геморрагический синдром, тяжелая миопия, хруст височно-нижнечелюстного сустава, плоскостопие и вальгусная установка стоп – полиостеоартроза.

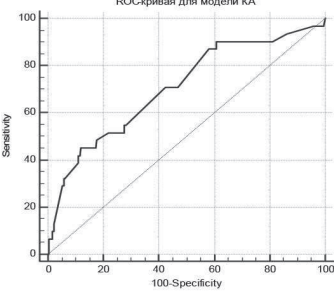
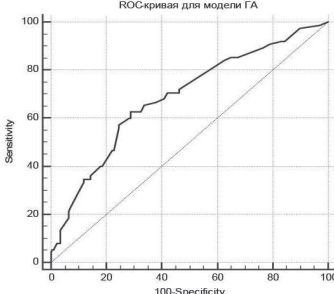
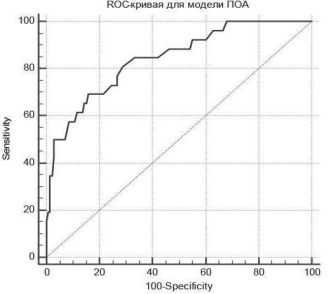
Аллель *Т полиморфного варианта rs63118460 гена *COL2A1* ассоциирован с повышенным риском развития ОА тазобедренных суставов. Риск развития полиостеоартроза повышается у носителей генотипа *С*С локуса rs143383 гена *GDF5*, аллеля *G и генотипа *G*G локуса rs1544410 гена *VDR*. Аллель *G полиморфного варианта rs1544410 гена *VDR* является маркером риска формирования ДСТ в целом. Установлено, что в формирование деформаций желчного пузыря вовлечены полиморфные варианты генов *MMP1*, *MMP13*; гипермобильности суставов – *MMP1*, *COL2A1*; грыжевой и варикозной болезни, гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ) – *MMP13*; артериальной гипотензии – *COL2A1*; деформаций грудной клетки, позвоночника и долихостеномелии – *COL2A1*, *VDR*; висцероптозов – *VDR*. Генотип *G*G локуса rs1544410 и генотип *G*Т локуса rs7975232 гена *VDR* повышают риск развития ОА и ДСТ в сочетании. Выявлена ассоциация полиморфных вариантов rs143383 (*GDF5*) и rs731236 (*VDR*) с развитием ОА, локуса rs35068180 (*MMP3*) с фор-

мированием ДСТ у женщин татарской этнической принадлежности; rs2252070 (*MMP13*), rs2276455 (*COL2A1*), rs1544410 и rs7975232 (*VDR*) – с формированием ДСТ у женщин русского происхождения.

С целью прогнозирования риска развития раннего ОА различной локализации у женщин с ДСТ разработаны клиничко-генетические модели прогнозирования риска развития ОА коленного, тазобедренного суставов и полиостеоартроза с применением метода многофакторной регрессии. В уравнение регрессии было включено 35 клинических предик-

торов (25 фенотипов ДСТ, наличия ДСТ в целом и 2 степени проявления, возраст манифестации ОА раньше 50 и после 50 лет, 5 групп различной этнической принадлежности (русские, татары, башкиры, метисы и другие) и 10 генетических локусов (по 2 аллеля в каждом)). Все полученные модели достигли уровня статистической значимости, наибольшее количество маркеров включила в себя модель для прогнозирования риска развития полиостеоартроза, имеющая самую высокую прогностическую ценность (таблица).

Клиничко-генетические модели прогнозирования риска развития ОА

Кокосартроз	Гонартроз	Полиостеоартроз
Кифоз / лордоз Варикозная болезнь ГЭРБ Птозы <i>MMP13</i> <i>COL2A1</i>	ДСТ Варикозная болезнь ГЭРБ Кифоз / лордоз <i>COL2A1</i> <i>GDF5</i>	ДСТ ГЭРБ Миопия тяжелая Кифоз / лордоз Деформации ЖП Хруст ВЧС <i>VDR</i> и <i>GDF5</i>
		
$\chi^2 = 16,93$ $p = 0,039$ $AUC = 0,686$	$\chi^2 = 23,43$ $p = 0,009$ $AUC = 0,707$	$\chi^2 = 41,89$ $p = 0,000079$ $AUC = 0,842$

Заключение

Учитывая вышеизложенное, можно сделать следующие выводы.

Фенотипические признаки ДСТ статистически значимо чаще встречаются у больных ОА и ассоциированы с локализацией патологического процесса, наличие НДСТ уменьшает возраст дебюта ОА.

Выявлены значимость локусов генов *COL2A1*, *GDF5*, *VDR* в развитии ОА без признаков НДСТ, вовлеченность локусов *VDR*, *COL2A1*, *MMP* в формирование отдельных фенотипических признаков НДСТ и ассоциация локусов *rs1544410* и *rs7975232* (*VDR*) с развитием данных патологий в коморбидном состоянии.

Полученные диагностические модели указывают на наличие общих клинических и генетических

маркеров НДСТ и ОА различной локализации, в первую очередь полиостеоартроза, что может быть основой для разработки алгоритма ранней диагностики и комплексного лечения данных состояний.

Литература

1. Национальные рекомендации Российского научного медицинского общества терапевтов по диагностике, лечению и реабилитации пациентов с дисплазиями соединительной ткани // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2016. Т. 11, № 1. С. 2–76.
2. Алексеева Л.И., Цветкова Е.С. Остеоартроз: из прошлого в будущее // Научно-практическая ревматология. 2009. № 2. С. 31–37.
3. Кадурина, Т.И., Горбунова В.Н. Дифференцированная и недифференцированная дисплазия соединительной ткани // Дисплазия соединительной ткани: руководство для врачей. СПб.: ЭЛБИ-СПб., 2009. С. 29–33.

ПОИСК МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ОСТЕОАРТРОЗА

Д.А. Шаповалова¹, А.В. Тюрин², С.С. Литвинов¹, Р.И. Хусаинова¹

¹ Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г. Уфа

² Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Уфа

Остеоартроз (ОА) – распространенное многофакторное заболевание суставов, при котором происходит разрушение компонентов сустава, хряща, кости

и тканей, окружающих сустав [1]. Вклад генетического компонента в развитие ОА оценивается от 40 до 65% [2]. Распространенность ОА в среднем в мире

составляет 6,43%, коррелирует с возрастом и достигает максимальных показателей (13,9%) у лиц старше 45 лет [3]. Заболевание характеризуется значительным снижением качества жизни и высокой первичной инвалидизацией пациентов. Существуют данные, что у пациентов с ОА наблюдается высокая распространенность различных фенотипических маркеров недифференцированной дисплазии соединительной ткани (НДСТ) [4], в основе которой лежат дефекты синтеза или катаболизма компонентов внеклеточного матрикса и регуляторов морфогенеза соединительной ткани, приводящие к нарушению ее структуры, что предполагает существование общих патогенетических звеньев формирования данных патологий.

В настоящее время благодаря технологии полногеномных исследований ассоциаций (GWAS) подтвержден вклад ряда известных генов в развитие ОА и выявлено множество новых кандидатных локусов, однако существует и множество невыясненных ключевых вопросов. Проблема сочетания ОА с фенотипическими проявлениями НДСТ чрезвычайно актуальна, представляет собой как фундаментальную, так и практическую задачу, разрешение которой будет способствовать разработке подходов ранней диагностики ОА, основанных на понимании молекулярного патогенеза заболевания.

Наиболее привлекательными в качестве потенциальных генетических маркеров заболевания являются полиморфные варианты генов фермента карбогидрат-сульфотрансферазы 11 (*CHST11*), участвующего в образовании хондротинсульфата, важного компонента протеогликана хряща [5], транскрипционного фактора *SOX9*, продукт которого является ключевым регулятором хондрогенеза, роста и поддержания хрящей, а также активирует ряд генов внеклеточного матрикса (ВКМ), среди которых ген агрекана (*AGC1*), крупного протеогликана, составляющего основу ВКМ хряща [6], а также ген агреканазы 5-протеиназы, расщепляющей агрекан, способный ускорить разрушение хряща при ОА.

Цель исследования – оценка роли полиморфных вариантов rs6539153 и rs835787 гена *CHST11*, rs2229989, rs7217932 и rs1042667 гена *SOX9*, rs226794 и rs2830585 гена *ADAMTS5* и VNTR полиморфизма гена *AGC1* в формировании предрасположенности к ОА у женщин из Волго-Уральского региона России с учетом наличия признаков НДСТ, возраста дебюта заболевания, локализации патологического процесса и этнического фактора.

Материалы и методы

Материалами для исследования послужили образцы ДНК 410 женщин в возрасте от 18 до 86 лет (средний возраст 45 лет). НДСТ оценивалась в баллах согласно критериям Кадуриной (2007).

ДНК выделяли из периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции. Анализ VNTR полиморфного локуса гена *AGC1* проводили с применением ПЦР метода. Полиморфные локусы rs226794 и rs2830585 гена *ADAMTS5* генотипировали с помощью ПЦР / ПДРФ, анализ локусов rs2229989, rs7217932, rs1042667 гена *SOX9* и rs6539153, rs835787 гена *CHS11* – с применением метода ПЦР в режиме реального времени на основе TaqMan технологии.

Результаты

В исследованной нами выборке женщин выявлено 12 аллельных вариантов и 27 генотипов VNTR полиморфизма гена *AGC1*, содержащих от 19 до 30 повторов, наиболее частыми из которых оказались аллели с 27, 28 и 26 повторами. Обнаружены статистически значимые различия по частоте аллеля *27 между группами женщин с ОА и контроля ($\chi^2 = 5,225$; $p = 0,022$) и между женщинами с ОА в сочетании с НДСТ и отсутствием таковых ($\chi^2 = 6,392$, $p = 0,011$); показатель отношения шансов (*OR*) составил 1,44 (95% *CI*: 1,05–1,88) и 1,66 (95% *CI*: 1,12–2,47) соответственно, свидетельствуя о повышенном риске развития изолированного ОА, а также ОА в коморбидном состоянии с НДСТ для носителей аллеля *27. Гомозиготный генотип *27*27 также статистически значимо чаще встречался у женщин с ОА без учета наличия признаков НДСТ и с ОА в сочетании с НДСТ по сравнению с группами контроля ($\chi^2 = 4,547$, $p = 0,033$ и $\chi^2 = 5,041$; $p = 0,025$ соответственно) и оказался маркером повышенного риска развития ОА в изолированном и сочетанном с НДСТ случаях (*OR* = 1,71; 95% *CI*: 1,04–2,81 и *OR* = 2,22; 95% *CI*: 1,09–4,48).

Исследование локусов rs226794 и rs2830585 гена *ADAMTS5* выявило более высокую частоту регистрации аллеля *С локуса rs2830585 гена *ADAMTS5* у женщин русской этнической принадлежности с ОА в сочетании с НДСТ по сравнению с сопоставимой по национальности группой контроля без признаков ОА и НДСТ, различия статистически значимы ($\chi^2 = 4,881$; $p = 0,027$): аллель *С оказался маркером повышенного риска развития ОА в сочетании с НДСТ (*OR* = 3,22; 95% *CI*: 1,09–9,44). Аллель *G локуса rs226794 гена *ADAMTS5* оказался ассоциированным с НДСТ без учета наличия ОА у женщин русской этнической принадлежности ($\chi^2 = 6,801$; $p = 0,009$, *OR* = 3,08; 95% *CI*: 1,28–7,43).

При изучении полиморфного локуса rs2229989 гена *SOX9* у женщин русской этнической принадлежности с ОА, наблюдалась статистически значимо более высокая частота регистрации аллеля *С ($\chi^2 = 32,179$; $p = 0,0001$, *OR* = 4,72; 95% *CI*: 2,71–8,20), и генотипа *СС ($\chi^2 = 20,94$; $p = 0,000005$, *OR* = 6,06; 95% *CI*: 2,71–13,52) по сравнению с группой контроля той же этнической принадлежности. Аллель *С полиморфного локуса rs1042667 гена *SOX9* был статистически значимо повышен у лиц башкирской этнической принадлежности с НДСТ независимо от наличия симптомов ОА ($\chi^2 = 4,140$; $p = 0,041$; *OR* = 2,73; 95% *CI*: 1,02–7,28), в сравнении с контрольной группой той же этнической принадлежности. Генотип *СС полиморфного локуса rs7217932 гена *SOX9* у женщин с ОА в общей выборке в сочетании НДСТ, оказался рискованным ($\chi^2 = 6,233$; $p = 0,012$, *OR* = 2,644; 95% *CI*: 1,21–5,75), что может говорить о влиянии НДСТ как фактора, сопутствующего развитию ОА для данного полиморфизма.

При изучении полиморфного локуса rs6539153 гена *CHST11* выявлено статистически значимое преобладание генотипа *СТ в группе пациентов с ОА в возрасте 50–65 лет, ($\chi^2 = 3,885$; $p = 0,048$, *OR* = 1,58; 95% *CI*: 1,00–2,51). Генотип *ТТ полиморфного

локуса rs6539153 гена *CHST11* был статистически значимо ассоциирован с НДСТ у башкир ($\chi^2 = 6,308$; $p = 0,012$, $OR = 7,5$; 95% CI : 1,38–40,87). Генотип *ТТ локуса rs835487 гена *CHST11* был статистически значимо ассоциирован с остеоартрозом тазобедренного сустава (коксартрозом) ($\chi^2 = 5,087$; $p = 0,024$, $OR = 2,37$; 95% CI : 1,10–5,04).

Заключение

Таким образом, нами выявлена значимость полиморфных вариантов генов *AGC1*, *ADAMTS5*, *CHST11* и *SOX9* в формировании предрасположенности к ОА при наличии симптомокомплекса НДСТ, что подтверждает существование общих генетических маркеров развития данных состояний. Полученные данные могут являться научной базой для разработки диагностических критериев заболевания.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ М-ТОР-СИГНАЛЬНОГО ПУТИ ПРИ СТАРЕНИИ И ЗДОРОВОМ ДОЛГОЛЕТИИ

В.В. Эрдман, Т.Р. Насибуллин, И.А. Туктарова, О.Е. Мустафина

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г. Уфа

Изменение современной демографической картины мира в пользу стареющего населения приводит к увеличению доли лиц, страдающих возраст-ассоциированными заболеваниями. В связи с этим актуальной задачей является идентификация молекулярно-генетических факторов, обеспечивающих продление активного возрастного периода с сохранением физической, психической, умственной активности и в целом способствующих успешному долголетию.

Определение взаимосвязей метаболических и сигнальных путей, формирующихся в организме при старении, возможно при анализе экспрессии генов в разные возрастные периоды жизни. Показатель уровня экспрессии гена можно расценивать как количественный генетический маркер возрастных изменений того или иного признака.

Было установлено снижение риска возникновения заболеваний, ограничивающих продолжительность жизни, – сердечно-сосудистых, онкологических, болезни Альцгеймера – при воздействии препаратом рапамицин [1–3]. Основные сигнальные пути, которые блокирует рапамицин, интегрированы в единый молекулярный комплекс, идентифицированный как mTOR (mammalian target of rapamycin). mTOR-путь играет важную регуляторную роль в выживании и росте клеток в ответ на разнообразие сигналы, обусловленные уровнем питательных веществ и энергии в клетке, окислительно-восстановительным статусом, тесно связан с процессами, запускаемыми голоданием, участвует в воспалительном и иммунном ответе [4–6]. Несмотря на то что mTOR характеризуют как ключевую молекулу старения и ассоциированы с возрастом заболеваний, механизм влияния mTOR-сигналинга на старение человека остается неясным [6, 7].

Литература

1. Wang T., Liang Y., Li H. et al. Single Nucleotide Polymorphisms and Osteoarthritis // *Medicine* (Baltimore). 2016. V. 95 (7). P. 1–13.
2. Panoutsopoulou K., Zeggini E. Advances in osteoarthritis genetics // *J. Med. Genet.* 2013. V. 50 (11). P. 715–724.
3. Алексеева Л.И., Цветкова Е.С. Остеоартроз: из прошлого в будущее // *Научно-практическая ревматология*. 2009. № 2. С. 31–37.
4. Алексеевко Е.Ю., Говорин А.В. Особенности клинических проявлений дисплазий соединительной ткани у больных остеоартрозом // *Кубанский научный медицинский вестник*. 2009. № 6. С. 7–9.
5. arcOGEN Consortium, arcOGEN Collaborators. Identification of new susceptibility loci for osteoarthritis (arcOGEN): a genome-wide association study // *Lancet*. 2012. V. 380. P. 815–823.
6. de Souza T.B., Mentz E.F., Brenol C.V. et al. Association Between the Aggrecan Gene and Rheumatoid Arthritis // *J. Rheumatol.* 2008. V. 35 (12). P. 2325–2328.

Цель работы – анализ уровня экспрессии основных генов mTOR-сигнального пути в лейкоцитах крови людей разного возраста, включая долгожителей.

Материалы и методы

Материалом исследования послужили 12 образцов РНК, полученных из лимфоцитов периферической венозной крови женщин в возрасте от 23 до 97 лет, не родственных между собой, принадлежащих к одной этнической группе (татары, проживающие в Республике Башкортостан). Выборка была подразделена на три группы согласно возрастной градации: среднюю (23–32 года), старческую (82–88 лет) и долгожителей (90–97 лет).

Очистку полученных образцов РНК от примесей геномной ДНК и построение первой цепи кДНК осуществляли с использованием набора RT² First Strand Kit в соответствии с протоколом фирмы-изготовителя (Qiagen, США). Количественный анализ содержания мРНК генов в лейкоцитах крови проводили методом ПЦР в режиме реального времени с использованием 96-луночных плашек PAHS-098ZA-12 (RT² Profiler™ PCR Array, Human mTOR Signaling, Qiagen, США), содержащих праймеры к 84 ключевым генам mTOR-сигнального пути.

Относительное содержание мРНК исследуемых генов определяли с помощью $\Delta\Delta C_t$ -метода с применением программного обеспечения RT² Profiler PCR Array Data Analysis version 3.5, размещенного на сайте производителя (Qiagen, [www.qiagen.com, http://pcrdataanalysis.sabiosciences.com/pcr/arrayanalysis.php](http://pcrdataanalysis.sabiosciences.com/pcr/arrayanalysis.php)). Разницу в уровне экспрессии генов между группами лиц разного возраста (fold regulation, FR) считали статистически значимой при $p < 0,05$.

Результаты

Выявлены гены mTOR-сигнального пути, дифференциально экспрессирующиеся в лейкоцитах крови у людей старческого возраста и долгожителей.

В группе женщин старческого возраста, в сравнении с лицами среднего возраста, статистически значимо понижен уровень мРНК генов *PRKCA* ($FR = -5,43$), *RPS6* ($FR = -4,94$), *AKT3* ($FR = -4,49$), *VEGFB* ($FR = -3,94$), *EIF4E* ($FR = -3,38$), *HSPA4* ($FR = -2,95$), *PRKAB2* ($FR = -2,64$), *YWHAQ* ($FR = -2,49$), *RRAGB* ($FR = -2,42$), *TSC1* ($FR = -2,35$), *MTOR* ($FR = -2,31$), *VEGFA* ($FR = -2,27$), *CA-B39L* ($FR = -2,21$), *EIF4B1* ($FR = -2,16$), *RPS6KB1* ($FR = -2,10$) и *PIK3CA* ($FR = -2,05$). Данные гены образуют единую сеть взаимодействий, в которой главенствующее по числу связей положение занимают *MTOR* и *RPS6KB1*. Ген *MTOR* кодирует серин-треонин-протеинкиназу, которая играет центральную роль в регуляции клеточного метаболизма, роста, выживаемости в ответ на влияние гормонов, факторов роста, нутриентов, энергетических сигналов и стресс. Ген *RPS6KB1* кодирует серин-треонин киназу рибосомального белка S6, которая в ответ на факторы роста и нутриенты стимулирует пролиферацию и рост клеток, а также прогрессию клеточного цикла через фосфорилирование *EIF4B*, *RPS6*, *EEF2K*. Наблюдаемое нами снижение экспрессии генов *MTOR* и *RPS6KB1* означает снижение биогенезиса рибосом и синтеза белков в старческом возрасте.

Среди долгожителей обнаружено повышение уровня экспрессии генов *RRAGB* ($FR = 2,20$) и *ULK2* ($FR = 3,17$) относительно такового в старческой группе. Ген *ULK2* кодирует серин-треонин-протеинкиназу, вовлеченную в процессы аутофагии в ответ на старение и действующую как «даун-стрим» эффектор и негативный регулятор mTORC1 через взаимодействие с *RPTOR*. Ген *RRAGB* кодирует белок (Ras-related GTP binding B), который играет критическую роль в активации mTOR-сигналинга посред-

ством аминокислот. В связи с этим можно полагать, что при долгожительстве активно поддерживаются процессы биосинтеза и аутофагии, необходимые для утилизации поврежденных молекул.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о снижении активности mTOR-сигнального пути в клетках крови в старческом возрасте. Полагают, что снижение (ингибирование) mTOR-сигналинга при старении важно для выживания [8]. В то же время у долгожителей экспрессия этих генов схожа с таковой у людей среднего возраста.

Литература

1. Sciarretta S., Volpe M., Sadoshima J. Mammalian target of rapamycin signaling in cardiac physiology and disease // *Circulation research*. 2014. V. 114, № 3. P. 549–564.
2. Richardson A., Galvan V., Lin A.L., Oddo S. How longevity research can lead to therapies for Alzheimer's disease: The rapamycin story // *Experimental gerontology*. 2015. V. 68. P. 51–58.
3. Alayev A., Salamon R.S., Schwartz N.S. et al. Combination of rapamycin and resveratrol for treatment of bladder cancer // *Journal of cellular physiology*. 2017. V. 232, № 2. P. 436–446.
4. Weichhart T., Säemann M.D. The multiple facets of mTOR in immunity // *Trends in immunology*. 2009. V. 30, № 5. P. 218–226.
5. McCormick M.A., Tsai S., Kennedy B.K. TOR and ageing: a complex pathway for a complex process // *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. 2011. V. 366, № 1561. P. 17–27.
6. Kennedy B.K., Lamming D.W. The mechanistic target of rapamycin: the grand conductor of metabolism and aging // *Cell Metabolism*. 2016. V. 23, № 6. P. 990–1003.
7. Johnson S.C., Martin G.M., Rabinovitch P.S., Kaeberlein M. Preserving youth: does rapamycin deliver? // *Science translational medicine*. 2013. V. 5, № 211. P. 211fs40.
8. Bjedov I., Partridge L. A longer and healthier life with TOR down-regulation: genetics and drugs // *Biochemical Society Transactions*. 2011. V. 39, № 2. P. 460–465.