



На правах рукописи

**СТЕПАНОВА СВЕТЛАНА КИМОВНА**

**ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ЛОКУСА  
МИТОНИНПРОТЕИНКИАЗЫ В ЯКУТСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ**

**03.02.07 – генетика**

**АВТОРЕФЕРАТ**  
**диссертации на соискание ученой степени**  
**кандидата биологических наук**

**Томск - 2015**

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем» и в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт медицинской генетики» (г.Томск)

**Научный руководитель:**

доктор биологических наук, профессор **Степанов Вадим Анатольевич**

**Официальные оппоненты:**

**Максимов Владимир Николаевич**, доктор медицинских наук, профессор; Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины», заведующий лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний (г.Новосибирск).

**Осаковский Владимир Леонидович**, кандидат биологических наук; «Научно-исследовательский институт здоровья» Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Северо-Восточный федеральный университет имени М. К. Аммосова», отдел исследований виллового энцефаломиелита и прогрессирующих заболеваний мозга, заведующий лабораторией генетических исследований (г.Якутск).

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет».

**Защита состоится** «\_\_\_» \_\_\_\_\_ **20\_\_** года в \_\_\_ час на заседании объединенного диссертационного совета ДМ 001.045.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт медицинской генетики» при участии ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России и ФГБНУ «Томский НИИ онкологии» по адресу: 634050, г. Томск, ул. Московский тр., д. 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт медицинской генетики» (г.Томск, ул. Набережная реки Ушайки, 10) и на сайте института ([www.medgenetics.ru](http://www.medgenetics.ru))

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2015 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

кандидат биологических наук

Хитринская И.Ю.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** По результатам генетико-эпидемиологических исследований в Республике Саха (Якутия), выявлено накопление некоторых моногенных патологий: спиноцеребеллярной атаксии 1-го типа, наследственной энзимопенической метгемоглобинемии 1-го типа, окулофаренгиальной миодистрофии, 3М-синдром, миотоническая дистрофия (МД) и т.д. (Ноговицына А.Н. и др., 2001; Назаренко Л.П. и др., 2004; Гарская Л.А. и др., 2004; Захарова Ф.А. и др., 1982; Банщикова Е.С. и др., 2002; Барашков Н.А. и др., 2007; Пузырев В.П. и др., 2000; Максимова Н.Р. и др., 2007, 2008, 2009). Большинство этих заболеваний являются наследственными болезнями нервной системы (НБНС), в патогенезе которых часто наблюдается нестабильность генома, возникающая вследствие экспансия тринуклеотидных повторов. Для большинства заболеваний существуют популяционные различия, как по распространенности, так и по спектру и частоте мутаций в генах, детерминирующих их развитие. Поэтому, для обеспечения наиболее эффективного МГК необходимо изучение молекулярно-генетических основ наследственных заболеваний (НЗ) в отдельных регионах и этнических группах. Распространенность МД в разных регионах и этнических группах различна. В среднем, по миру частота встречаемости составляет 4-5 заболевших на 100 тысяч населения (Harlye N. et al., 2004). Максимальная частота МД зафиксирована в Квебеке (Канада) - 189 на 100 тысяч населения (Matnien J. et al., 1990). В популяции якутов частота МД достигает максимального значения в сравнении с другими популяциями России (21,3 на 100 тыс. человек) (Сухомясова А.Л. и др., 2005), что определяет актуальность его изучения в данном регионе. Миотоническая дистрофия (ОММ:160900) – аутосомно-доминантное многосистемное заболевание, характеризующееся широкой вариабельностью манифестации, клиническим полиморфизмом и тяжестью течения. Главные клинические проявления: миотония, мышечная слабость, катаракта, аритмии сердца, облысение со лба, нарушенная толерантность к глюкозе, умственная отсталость. Результаты исследований нормального полиморфизма гена миотонической дистрофии в популяциях РС (Я) косвенно свидетельствуют о том, что накопление данного заболевания обусловливается эффектом основателя. Вариабельность тракта тринуклеотидных повторов в гене миотонинпротеинкиназы (*DMPK*) в различных популяциях мира исследована достаточно подробно (Neville G. et al., 1994; Tishkoff S. et al., 1998; Priyadarshi S. et al., 2001; Pan H. et al., 2001; Acton R. et al., 2007; Freitas S. et al., 2007; Tweerasasawat S. et al., 2010; Magana J. et al., 2011), тогда как в России есть немногочисленные данные о распространенности аллелей СТG-повторов в гене *DMPK* только в ряде популяций европейской части (русские, украинцы, фино-

угорские популяции Волго-Уральского региона) и у якутов. Также, в настоящее время в гене *DMPK* описано более тысячи однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), исследования которых проводились в популяциях Тайваня (Pan H. et al., 2001), Японии (Yamagata H. et al., 1994), Эфиопии (Gennarelli M. et al., 1999), Южной Африки (Goldman A. et al., 1995), Сербии (Krnđija D. et al., 2005), Ирана (Shojasaffar B. et al., 2008), Китая (Wu Z. et al., 2011), Таиланда (Theerasasawat S. et al., 2010), Кореи (Kwon M. et al., 2010), Западной Европы (База данных Ensembl). Эти данные демонстрируют значительные межпопуляционные отличия в частотах гаплотипов в локусе *DMPK* и накопление отдельных гаплотипов у больных МД. Популяционные данные по генетической вариабельности локуса *DMPK* позволили предположить происхождение мутации, приводящей к МД, в популяции, предковой по отношению к населению Европы и Азии. Частоты аллелей и гаплотипов, история формирования гаплотипов в локусе *DMPK* в популяциях Северной Евразии остается неизученной. Не ясны и популяционные механизмы, приведшие к накоплению МД у населения Республики Саха (Якутия).

**Цель исследования:** охарактеризовать генетическую вариабельность локуса *DMPK* у якутов, больных миотонической дистрофией и в популяциях Северной Евразии; оценить время возникновения мутации в якутской популяции.

**Задачи исследования:**

1. Оценить генетическую вариабельность однонуклеотидных полиморфных вариантов и СТG-повторов в гене *DMPK* в популяциях Северной Евразии.
2. Охарактеризовать структуру SNP-гаплотипов по изученным маркерам в гене *DMPK* у больных МД и в популяции якутов
3. Проанализировать структуру STR-гаплотипов в гене *DMPK* у больных МД и в популяции якутов. Дать оценку возраста мутации в гене *DMPK* и охарактеризовать популяционно-генетический механизм накопления МД в якутской популяции.

**Научная новизна исследования.** Впервые изучена молекулярная структура гена *DMPK* по двум группам маркеров (SNP и STR), маркирующих область динамической мутации в якутской популяции, проанализирована взаимосвязь СТG-повторов и SNP-маркеров. Впервые описана генетическая вариабельность, генетическая дифференциация, структура SNP-гаплотипов и структура неравновесия по сцеплению в локусе *DMPK* в популяционных выборках русских, киргизов, хантов, бурят, кетов. Впервые дана оценка возраста мутации в гене миотонинпротеинкиназы у якутов. По исследованным SNP впервые выявлены мажорные гаплотипы, характерные для группы больных МД якутов.

**Практическая значимость.** Данные, полученные в работе, могут быть использованы в медико-генетическом консультировании больных с МД и их семей, в косвенной диагностике МД, в планировании профилактических мероприятий, в программах пренатального и неонатального скрининга наследственных болезней в якутской популяции. Информация о генетическом разнообразии и дифференциации якутов и других популяций Северной Евразии и данные о возрасте мутации и механизме накопления заболевания у якутов может быть использована этнографами, антропологами, историками, лингвистами, изучающими этногенез и происхождение якутов.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Обнаружена значимая генетическая дифференциация популяций Северной Евразии по SNP-маркерам и CTG-повторам гена *DMPK*.
2. У больных миотонической дистрофией из якутской популяции наблюдаются два основных SNP-гаплотипа. Первый из них (ТТТСТС), встречающийся с частотой 40%, является общим для якутов и всех ранее исследованных популяций. Второй гаплотип (GTCСТТ, 18,3%) встречается только у якутов и не выявлен среди больных МД из других популяций.
3. Гаплотипом основателя, сцепленным с динамической мутацией в локусе *DMPK* у якутов, является, обнаруженный с помощью анализа фланкирующих STR-маркеров, гаплотип 8-3-6-9-1-2. Возраст мутации МД в якутской популяции, оцененный по вариабельности STR-гаплотипов, составил  $3179 \pm 704,84$  лет.

**Апробация работы.** Основные материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на V съезде Российского общества медицинских генетиков (Уфа, 2005); на VIII и X научных конференциях «Генетика человека и патология» (Томск, 2007, 2014); на межрегиональной научно-практической конференции «Молекулярно-клеточные аспекты патологии человека на Севере» (Якутск, 2007); на межрегиональной научно-практической конференции «Современные аспекты эпидемиологии, диагностики и лечения неврологических заболеваний на Севере» (Якутск, 2008); на научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицинской генетики на Крайнем Севере» (Якутск, 2009); на VII и VIII Всероссийских научно-практических конференциях с международным участием «Молекулярная диагностика» (Москва, 2010, 2014), на VI съезде Российского общества медицинских генетиков (Ростов - на - Дону, 2010), на межлабораторных семинарах ФГБНУ «ЯНЦ КМП» (Якутск, 2007, 2008, 2010, 2011, 2014); на межлабораторном семинаре ФГБНУ «НИИ МГ» (Томск, 2009, 2014).

**Личное участие автора.** Личный вклад автора заключался в выполнении всех этапов исследования: формирование групп для исследования, выделение ДНК, молекулярно-генетический анализ нормальных аллелей СТG-повторов гена *DMPK*; анализ SNP методом ПЦР-ПДРФ; детекция СТG-повторов методом капиллярного гель-электрофореза в денатурирующих условиях на генетическом анализаторе ABI PRISM 310; анализ STR-маркеров на генетическом анализаторе ABI PRISM 3730. Автор лично проводил генотипирование, статистическую обработку и обобщение полученных данных, а также подготовку основных публикаций по выполненной работе и оформление рукописи.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 24 печатные работы, из которых 10 – в журналах, рекомендованных для опубликования работ при защите кандидатской диссертации на соискание ученой степени (реферируемых журналах ВАК).

**Объём и структура диссертации.** Диссертация изложена на 157 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, изложения и обсуждения полученных результатов, общего заключения, выводов, списка литературы и приложения. Список литературы включает 293 источника (112 отечественных и 181 иностранных). Диссертация содержит 10 рисунков и 25 таблиц (10 таблиц в тексте диссертации и 15 таблиц в Приложении).

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.**

### **Структура исследования.**

В работе использованы образцы ДНК 98 больных МД из 47 неродственных семей и 50 их фенотипически здоровых родственников, проживающих в РС (Я). Сведения о больных были получены из Республиканского генетического регистра наследственной и врожденной патологии МГК ГБУ РС (Я) РБ№1-НЦМ, а также в процессе экспедиционных выездов, проводимых совместно с сотрудниками ФГБУ «ЯНЦ КМП» СО РАМН. При обследовании семьи заполнялся протокол МД, включающий сроки проявления признаков заболевания, данные неврологического осмотра, генеалогическую карту, кровное родство, национальность, место рождения пробандов и их родителей. Для верификации диагноза проводились биохимические и функциональные методы исследования (ЭНМГ, ЭКГ, УЗИ и др.) и осмотр специалистов. Диагноз МД был выставлен согласно современной классификации нервно-мышечных заболеваний (Гринио Л.П. и др., 1997; Лобзин В.С. и др., 1998) по МКБ X G 11 и был подтверждён

молекулярно-генетическим анализом СТG-повторов в гене *DMPK* в лабораторных условиях.

Популяционная выборка здоровых индивидов представлена коренными жителями Якутии, проживающими в двух этногеографических районах РС (Я): центральном (128 чел.) и вилюйском (100 чел.). Северная Евразия представлена бурятами из г.Улан-Удэ (50 чел.) и пос. Хуромша (50 чел.) (Бурятия), русскими (100 чел.) из Томской области, хантами (100 чел.) из деревни Русскинская Сургутского района (ХМАО), кетами (50 чел.) из пос. Келлог (Туруханский район Красноярского края); южными киргизами из г.Ош (50 чел.) и северными киргизы из пос. Кегеты (50 чел.) (Республика Кыргызстан). Забор биологического материала (венозной крови) производили после медицинского осмотра с обязательным письменным информированным согласием на проведение исследования. Этническая принадлежность индивида учитывалась до третьего поколения.

### Молекулярно-генетические методы.

В работе использовались современные молекулярно-генетические методы исследования: выделение и типирование ДНК; молекулярно-генетический анализ СТG-повторов гена *DMPK* методом ПЦР с использованием праймеров, предложенными Brook J.et al. (1992); анализ SNP методом ПЦР-ПДРФ; детекция СТG-повторов и анализ динуклеотидных маркеров методом капиллярного гель-электрофореза в денатурирующих условиях, используя стандарты длины фрагментов GeneScan-500 TAMRA и GeneScan-500 LIZ. Анализ размера фрагментов и генотипирование проводили с помощью программного обеспечения GeneScan Analysis (Perkin-Elmer). Для анализа гаплотипов были подобраны 6 однонуклеотидных полиморфных маркеров равномерно распределённых по гену *DMPK* (табл.1).

Таблица 1

Характеристика ПЦР-ПДРФ исследованных однонуклеотидных локуса *DMPK*

RefSNP ID (rs)	Полиморфизм	Локализация в гене	Нуклеотидная позиция	Метод генотипирования/фермент
rs2070736	<i>G/T</i>	TEL от интрона	46286714	ПЦР-ПДРФ (DraIII)
rs572634	<i>G/T</i>	Интрон 4	46282503	ПЦР-ПДРФ (AccB1I/HphI)
rs1799894	<i>C/T</i>	Интрон 5	46281745	ПЦР-ПДРФ (AspLEI/HhaI)
rs527221	<i>C/G</i>	Экзон 10	46275976	ПЦР-ПДРФ (Bse1I/BmpI)
rs915915	<i>G/T</i>	Интрон 11	46274972	ПЦР-ПДРФ (Fnu4HI)
rs10415988	<i>D19S463</i>	15kbCEN	46246704	ПЦР-ПДРФ (TaqI)

Микросателлитные (STR) маркеры были подобраны таким образом, чтобы равномерно с обеих сторон фланкировать тринуклеотидные CTG-повторы в гене *DMPK*. Их характеристика дана в таблице 2.

Таблица 2

## Микросателлитные маркеры, использованные в исследовании

Название маркера	Хромосомная локализация на физической карте (сМ)	Диапазон длин аллелей (п.н.)
<i>D19S408</i>	67,37	122-146
<i>D19S903</i>	69,50	132-166
<i>DMPK</i>	70,14	72-129
<i>D19S219</i>	70,14	160-190
<i>D19S412</i>	70,14	89-113
<i>D19S606</i>	72,72	172-190
<i>D19S879</i>	75,41	217-265

**Статистические методы.** Проверку распределения генотипов на соответствие равновесию Харди-Вайнберга (РХВ) проводили с помощью критерия  $\chi^2$ . Частоты гаплотипов в популяциях определялись с помощью EM-алгоритма. У пробандов, больных МД и их родственников гаплотипы также устанавливались на основе анализа сегрегации хромосом, несущих мутацию и нормальных хромосом в родословных. Уровень генетического разнообразия и межпопуляционной дифференциации вычисляли методом анализа молекулярной вариабельности (AMOVA). Для анализа ассоциации маркеров исследуемых полиморфизмом с МД, сравнивали частоты аллелей и генотипов в группах больных и здоровых индивидов, используя критерий  $\chi^2$ , а также точный критерий Фишера. Для расчета возраста мутации использовался подход «генетических часов» (Labuda D. et al., 1997), оценивающий количество поколений  $g$  с момента появления мутации в популяции до настоящего времени, исходя из изменения неравновесия по сцеплению полиморфных маркеров с локусом заболевания за этот период времени (Risch N. et al., 1995). Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью программ «Excel 2007», «Statistica 8.0», «Arlequin», «Haplowiev 4.1», «Network» и пакета программ «PHYLIP». Различия двух сравниваемых величин считалось достоверным при достижении уровня значимости  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Популяционно-генетический анализ варибельности SNP и СТG-повторов в гене DMPK в популяциях Северной Евразии.

#### Генетическая варибельность однонуклеотидных полиморфных вариантов в гене DMPK в исследованных популяциях.

При сравнении частот аллелей и генотипов между изученными группами для полиморфного локуса rs2070736 выявлено наименьшее значение частоты минорного аллеля (15%) у кетов и наибольшее (37,3%) - у якутов. По полиморфному локусу rs572634 минимальное значение наблюдается у якутов (9,6%), максимальное - у кетов (36%). По локусу rs1799894 наименьшая частота минорного аллеля выявлена в популяционной выборке якутов (12,1%), наибольшая (45,9%) - в популяции хантов. Разброс аллельных частот по локусу rs527221 выглядел следующим образом: невысокие частоты наблюдались в популяциях бурят и хантов (3,5% и 7,1% соответственно), а наибольшая частота зафиксирована в популяции кетов (38%). Для rs915915 наибольшее значение (46%) - у кетов. По rs10415988 минимальная частота минорного аллеля (13,2%) характерна для якутов, а у хантов она достигла максимального значения для всех наблюдаемых групп (47,4%). Наибольший показатель наблюдаемой гетерозиготности обнаружен по локусу rs1799894 в популяционной группе русских (0,535) и наименьший – по локусу rs527221 в группе бурят (0,07). Два из шести исследованных генетических маркеров - rs1799894 и rs10415988 характеризуются очень высоким уровнем ожидаемой гетерозиготности (от 0,489 до 0,499). При попарном сравнении изученных популяций по частотам исследованных локусов, значимые различия были зафиксированы между популяциями кетов и бурят (по всем шести исследованным локусам), кетов и хантов, бурят и русских (по четырём локусам). Значение генетической дифференциации популяций по совокупности всех исследуемых SNP-локусов для всех изученных популяционных выборок составило 11,83%. Этот показатель оказался на порядок выше, чем для двух якутских популяций (0,97%), что показывает неоднородность населения популяций Северной Евразии по сравнению с популяциями, проживающими на территории республики Саха.

#### Анализ варибельности СТG-повторов в гене DMPK в изученных популяциях.

В работе была проанализирована варибельность СТG-повторов в центромержной области гена DMPK в шести изученных популяционных выборках (якуты, кеты, русские, киргизы, буряты, ханты). Частоты аллелей в шести исследованных популяциях по СТG-повторам в гене DMPK представлены на рисунке 1. Практически во всех популяциях распределение частот генотипов

соответствует равновесию Харди-Вайнберга (сдвиг равновесия наблюдается лишь в популяция кетов, что можно объяснить такими факторами популяционной динамики как дрейф генов или малой численностью выборки).

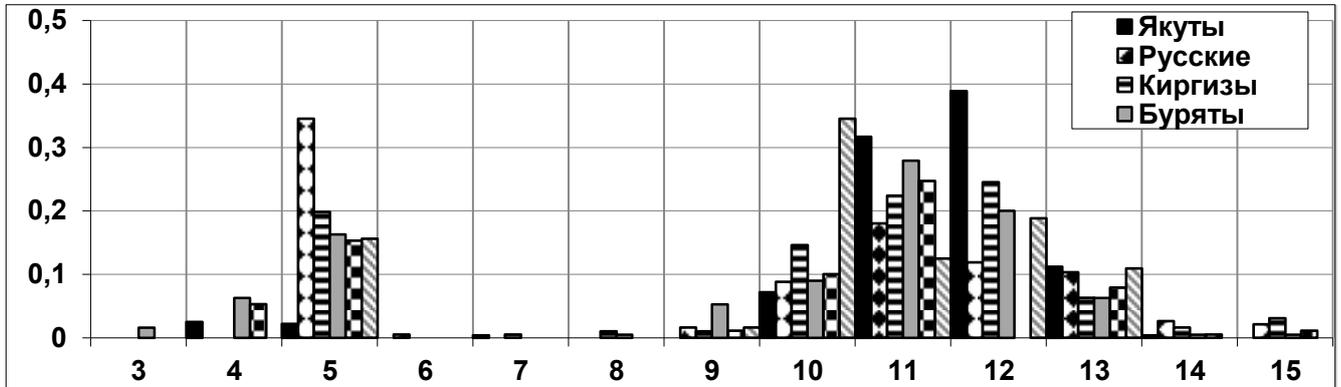


Рис. 1. Частота СТG - аллелей в гене *DMPK* в популяциях Северной Евразии

В шести популяциях нашего исследования было найдено от 8 до 17 аллельных вариантов локуса *DMPK*. Они содержат от 3 до 28 СТG-мотивов, что специфично для каждой группы. Во всех популяциях чаще всего наблюдались аллели, несущие 11,12 и 13 (у якутов, бурят, хантов, киргизов и кетов) и 5 (у русских) повторов, но частоты этих повторов для каждой популяции индивидуальны. Аллель (СТG)<sub>5</sub> характерен для русской популяции (как единственной европеоидной из изучаемых популяций). Остальные пять популяций, являющиеся монголоидными, характеризуются аллелями, несущими (СТG)<sub>11-12</sub>, что хорошо согласуется с литературными данными. Все шесть популяций продемонстрировали близкие значения уровня генетического разнообразия ( $H_e$ ) - от 0,732 у якутов до 0,84 у хантов. Анализ уровня подразделённости изученных популяций по СТG-повторам зафиксировал значения генетической дифференциации  $F_{st}$  и  $R_{st}$  равные 0,033 и 0,026 соответственно. Якуты выделяется из исследованных популяций в силу особенности распределения частот аллелей СТG-повторов, которое может быть охарактеризовано как унимодальное – аллели, содержащие от 11 до 14 повторов составляют 89%, тогда как этот локус в большинстве популяций мира имеет, как правило, бимодальное распределение. По литературным данным схожее по характеру распределение обнаружено в тибетской популяции и у миштеков - коренных жителей Мексики (Magaña J.et al., 2011). Частота аллеля (СТG)<sub>5</sub>, широко распространенного в европейских популяциях, у якутов составляет всего 3-5%.

## **Характеристика генетической варибельности локуса *DMPK* у больных миотонической дистрофией и в якутской популяции.**

### Анализ распределения частот SNP-аллелей и генотипов в локусе *DMPK* в якутских выборках.

Распределение генотипов в популяции якутов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга. Максимальная и минимальная частота минорного аллеля выявлены в группе здоровых родственников для полиморфного локуса rs10415988 (70,3%) и для локуса rs527221 (5,6%). При сравнении больных МД с популяционной выборкой якутов значимо ассоциированными с МД локусами оказались rs1799894, rs915915 и rs10415988. Отношение шансов (OR) развития МД у представителей якутской популяции по этим локусам оказались довольно высоки и оценивались как 4,99 (95% CI, p=0,000), 2,59 (95% CI, p=0,004) и 3,15 (95% CI, p=0,010) соответственно. Наибольшее значение наблюдаемой гетерозиготности зафиксировано в группе больных якутов по локусам rs1799894 (0,733) и rs10415988 (0,776). В этой же группе отмечен недостаток гетерозигот по локусу rs5726340 (0,107).

### Структура SNP-гаплотипов в гене *DMPK* в якутских выборках

Частоты SNP-гаплотипов оценивались двумя различными способами – с помощью EM-алгоритма, исходя из частот аллелей отдельных локусов и с помощью прямой реконструкции гаплотипов, исходя из сегрегации хромосом в родословных. С помощью EM алгоритма в группе больных МД было выявлено 25 гаплотипов, встречающихся с частотой от 0,003 до 0,39. С частотой более 3% наблюдалось лишь три гаплотипа, два из которых - TTTCTC и GTCSTT - составили 58% от общего числа. Их частоты были 39% и 19% соответственно. Прямой анализ родословных выявил 19 гаплотипов в 24 семьях больных МД. Частоты основных гаплотипов оказались практически одинаковыми с частотами, полученными с помощью EM-алгоритма. Основные гаплотипы TTTCTC и GTCSTT наблюдались в 40,0% и 18,3% случаев соответственно. При этом, «мажорный» гаплотип TTTCTC был выявлен на хромосоме с экспансией тринуклеотидных повторов в 54,2% случаев у больных МД, и в 63,3% случаев у пробандов, что ещё раз подтверждает значимость этого гаплотипа в развитии миотонической дистрофии у якутов. Эти же гаплотипы (TTTCTC и GTCSTT) с высокой частотой были обнаружены среди здоровых родственников больных (23,8% и 15,8%, соответственно). В популяционной выборке якутов было найдено 26 гаплотипов, частоты которых колебалась от 0,02 до 0,315. С частотой более 3% было обнаружено 19 гаплотипов, но лишь два из них были основными: с частотой 27,5% зафиксирован гаплотип GTCSTT, и с частотой 31,5% наблюдался

гаплотип ТТССГТ. Гаплотипы, мажорные у больных, в популяции якутов встречаются с частотами 7,5% и 5,5%.

В таблице 3 дана характеристика общих гаплотипов, обнаруженных у больных МД и в популяционной выборке якутов, а также результаты попарного сравнения частот этих гаплотипов. При сравнении группы больных МД и популяционной выборки якутов наблюдали шесть основных общих гаплотипов. По всем общим гаплотипам показаны статистически значимые отличия в частотах встречаемости между исследованными группами. Это гаплотипы ТТТСТС (OR=8,22, 95% CI 4,94–13,70), ГТССТТ (OR=3,83, 95% CI 2,04–7,16), ТТССГТ (OR=0,09, 95% CI 0,03–0,25), ТТТСТТ (OR=19,93, 95% CI 3,86–137,71), TGCCGT (OR=6,4, 95% CI 1,19–36,51) и GTCCGT (OR=0,09, 95% CI 0,03–0,26). Высокие показатели шанса развития заболевания (OR) были обнаружены для четырёх гаплотипов - «мажорного» гаплотипа ТТТСТС, а также для ГТССТТ, ТТТСТТ и TGCCGT. При этом, гаплотип ГТССТТ у больных МД был обнаружен с одинаковой частотой (18,3%) как на хромосоме, несущей мутацию, так и на нормальной. Гаплотип ТТССГТ наблюдался в два раза чаще на мутантной хромосоме (с частотой 6,7%), чем на хромосоме с нормальным числом СТG-повторов (с частотой 3,3%). Можно утверждать, что наиболее рисковым гаплотипом является лишь гаплотип ТТТСТС, располагающийся в 63,3% случаев на мутантной хромосоме (против 16,6% случаев на хромосоме без мутации) и демонстрирующий высокое значение отношения шансов (OR=8,22). Напротив, показатель отношения шансов оказался ниже 0,1 для гаплотипов ТТССГТ и GTCCGT, которые могут трактоваться в качестве протективных, учитывая и тот факт, что эти гаплотипы во всех наблюдаемых семьях были только на хромосоме, не несущей мутацию.

Таблица 3

Частоты основных SNP-гаплотипов и результаты попарного сравнения больных МД с популяционной выборкой якутов

Гаплотип	Частота гаплотипа (%)		$\chi^2$	P	OR
	Больные МД (N=60)	Популяция (N=280)			
ТТТСТС*	40,0	7,5	88,09	0,000	8,22
ГТССТТ*	18,3	5,5	20,78	0,000	3,83
ТТССГТ*	4,2	31,5	36,22	0,000	0,09
ТТТСТТ*	6,7	0,3	22,97	0,000	19,93
TGCCGT*	3,3	0,5	5,09	0,024	6,4
GTCCGT*	3,3	27,5	31,02	0,000	0,09

Примечание: \*- частоты достоверно отличаются ( $P \leq 0,05$ )

Сравнение полученных гаплотипических данных с мировыми (Pan H. et al., 2001, Kwon M. et al., 2010, Nevilli G. et al., 1994, Yamagata H. et al., 1998)

показывает, что мажорный гаплотип ТТТСТС наблюдается у больных МД в разных странах примерно с такой же частотой, как и в данном исследовании (табл. 4). Еще два гаплотипа (ТТССГТ и GTCCGT) встречались у больных МД разного этнического происхождения с различными частотами. Гаплотип GTCCTT, зафиксированный в нашем исследовании с высокой частотой 18,3%, был характерен только для больных якутов.

Таблица 4

Частоты гаплотипов (%) по 6 SNP-локусам гена *DMPK* у больных МД

	Канада (Neville,1994)	Япония (Yamagata,1998)	Тайвань (Pan,2001)	Корея (Kwon,2010)	Якуты (данное исследование,2014)
ТТТСТС	49%	30%	41%	41,4%	40,0%
GTCCTT	-	-	-	-	18,3%
ТТССГТ	8%	53%	21%	19,7%	4,2%
GTCCGT	27%	-	11%	20,4%	3,3%
TTCGGT	-	4,8%	4%	6,6%	-

#### Структура STR-гаплотипов в гене *DMPK* в якутских выборках

С целью дальнейшего изучения структуры локуса миотонинпротеинкиназы у якутов, был проведен анализ динуклеотидных микросателлитных маркеров, фланкирующих область тринуклеотидных СТG-повторов в гене *DMPK* в двух исследуемых группах (больные МД и популяционная выборка якутов). В результате исследования было зафиксировано 14 аллельных вариантов, встречающихся с частотой от 0,005 до 0,655. Число аллелей по каждому локусу варьировало от 4 до 12.

При анализе STR-гаплотипов у больных МД было продемонстрировано 114 гаплотипов, частоты которых варьировали от 0,6 до 8,8 %. Подавляющее большинство гаплотипов (76%) наблюдалось с частотой менее 0,7%. С максимальной частотой был зафиксирован гаплотип 8-3-6-9-1-2. Результаты гаплотипического анализа позволили выявить наиболее общий, так называемый «предковый гаплотип», который и рассматривался нами в дальнейшем как гаплотип основателя. В популяционной выборке наблюдали 123 гаплотипа, встречающихся с частотой от 0,7 до 2,6%.

Для оценки неравновесия по сцеплению (б) было проведено исследование шести STR-маркеров на 80 хромосомах с мутацией и 154 хромосомах здоровых индивидов из той же якутской популяции. Наибольшие значения показателя неравновесия по сцеплению (б) были получены для маркеров, расположенных дистально по отношению к области СТG-повторов. Ослабление сцепления соответственно, наблюдается по мере отдаления от области мутации (таблица 5):

Таблица 5

Показатель неравновесия по сцеплению между аллелями STR-гаплотипа  
основателя и области CTG-повторов

Аллель	8	3	6	9	1	2
Показатель неравновесия по сцеплению (б)	0,061	0,187	0,493	0,424	0,25	0,087

Исходя из полученных результатов, выявлен наиболее вероятный предковый гаплотип 8-3-6-9-1-2 по маркерам *D19S408*, *D19S903*, *D19S219*, *D19S412*, *D19S606*, *D19S879*. Выявленные гаплотипы хромосом приведены в табл. 6. выделенная область представляет сохраненную часть гаплотипа основателя.

Таблица 6

STR-гаплотипы хромосом, несущих мутацию экспансии CTG-повторов  
в гене *DMPK*

№ семьи	№ больного	<i>D19S408</i>	<i>D19S903</i>	CTG	<i>D19S219</i>	<i>D19S412</i>	<i>D19S606</i>	<i>D19S879</i>
6	Bol 3434	8	3	m	6	9	1	2
8	Bol 647	8	3	m	6	9	1	2
20	Bol AA791	8	3	m	6	9	1	2
7	Bol 443	8	3	m	6	9	1	2
43	Bol A8840	8	3	m	6	9	1	2
5	Bol 3278	8	3	m	6	9	1	2
38	Bol AA5933	8	3	m	6	9	1	2
45	Bol AA7585	8	3	m	6	9	1	2
10	Bol 547	8	3	m	6	9	1	2
39	Bol AA4752	8	3	m	6	9	1	2
12	Bol AA2508	8	3	m	6	9	1	2
11	Bol 975	8	3	m	6	9	3	1
30	Bol 512	8	3	m	6	9	3	1
1	Bol AA1435	5	3	m	6	9	1	2
9	Bol 4034	5	3	m	6	9	1	2
44	Bol AA3402	6	7	m	6	9	1	4
14	Bol 1186	8	7	m	6	9	3	4
34	Bol 1090	8	7	m	6	9	3	4
28	Bol 420	8	7	m	6	9	3	4
3	Bol AA842	6	7	m	6	3	1	4
15	Bol 1372	6	7	m	6	3	1	4
23	Bol 301	6	7	m	6	3	1	4
4	Bol 2504	5	8	m	6	5	4	1

Примечание: выделенная область представляет сохраненную часть STR-гаплотипа основателя.

После выявления основных гаплотипов по SNP и STR-маркерам, были проанализированы совпадения STR-SNP-гаплотипов на мутантных хромосомах у больных МД якутов. В выборке больных МД якутов было обнаружено 10 полных SNP-гаплотипов, встречающихся с высокой частотой и мажорного STR-гаплотипа на мутантной хромосоме. При этом лишь семь вариантов представляли собой полное совпадение мажорного SNP-гаплотипа (TTTCTC) и мажорного STR-гаплотипа (8-3-6-9-1-2). В таблице 7 представлены эти гаплотипы.

Семь полных STR-SNP-гаплотипов на хромосоме с экспансией CTG-повторов в гене *DMPK* имеют предковую структуру 8-3-T-T-T-C-T-C-6-9-1-2. Это составляет 30,4% от всех полных построенных гаплотипов на хромосоме с мутацией в выборке больных МД. Три гаплотипа демонстрируют не полную сохраненную область гаплотипа основателя. Полиморфные SNP-варианты находятся значительно ближе к области CTG-повторов чем STR-локусы и, соответственно, меньше подверглись процессу рекомбинации. Поэтому, представляется более обоснованным определение возраста мутации при использовании STR-маркеров, составляющих гаплотип основателя 8-3-6-9-1-2, нежели SNP-маркеров.

Таблица 7

STR-SNP-гаплотипы хромосом, несущих мутацию экспансии CTG-повторов в гене *DMPK*

№ семьи	№ больного	<i>D19S408</i>	<i>D19S903</i>	<i>rs2070736</i>	<i>rs572634</i>	<i>rs1799894</i>	<i>rs527221</i>	<i>rs915915</i>	<i>rs10415988</i>	CTG	<i>D19S219</i>	<i>D19S412</i>	<i>D19S606</i>	<i>D19S879</i>
6	Bol 3434	8	3	T	T	T	C	T	C	m	6	9	1	2
8	Bol 647	8	3	T	T	T	C	T	C	m	6	9	1	2
43	Bol A8840	8	3	T	T	T	C	T	C	m	6	9	1	2
5	Bol 3278	8	3	T	T	T	C	T	C	m	6	9	1	2
45	Bol A7585	8	3	T	T	T	C	T	C	m	6	9	1	2
10	Bol 547	8	3	T	T	T	C	T	C	m	6	9	1	2
39	Bol A4752	8	3	T	T	T	C	T	C	m	6	9	1	2
1	Bol A1435	5	3	T	T	T	C	T	C	m	6	9	1	2
23	Bol 301	6	7	T	T	T	C	T	C	m	6	3	1	4
4	Bol 2504	5	8	T	T	T	C	T	C	m	6	5	4	1

Примечание: выделенная область представляет сохраненную часть гаплотипа основателя.

### **Оценка возраста мутации в гене *DMPK* и популяционно-генетический механизм накопления МД в якутской популяции.**

В работе был произведён расчёт возраста мутации в гене *DMPK* путём анализа рекомбинации между изученными шестью микросателлитными маркерами, фланкирующими мутантную область у якутов, больных МД. Среднее значение числа поколений, прошедших после начала распространения мутации в гене *DMPK* составило 158 со стандартным отклонением 35,24.

Исходя из продолжительности одного поколения 20 лет, время, за которое произошло накопление мутации, составляет  $3179 \pm 704,84$  лет. Возраст мутации, оцененный в нашем исследовании, исчисляется несколькими тысячелетиями и связан с докурыканским (гуннским) периодом формирования якутов (конец I тысячелетия до н.э) и возникновения мутации, по-видимому, произошло намного раньше массового заселения предками якутов территории современной Якутии в XI - XII веках (Гоголев А.И., 2000), а время начала распространения мутации, таким образом, произошло в доэтническом периоде формирования якутов. Наши данные демонстрируют очень древнее происхождение изучаемой мутации в гене *DMPK*, совпадающее, по мнению исследователей якутского этноса, с существованием на территории современной Якутии, и, вероятно, и за ее пределами, нескольких близкородственных племен. История возникновения мутации совпадает с периодом смены раннеолитической исаковской культуры серовской и китойской (Окладников А.П., 1964). Наиболее вероятными кандидатами на эту роль представляются предки современных юкагиров и родственные им палеоазиатские племена. От кого из древних предков унаследована мутация предполагать на сегодняшний день довольно сложно, поскольку происхождение данной мутации в других этнических группах не изучалось.

Оценка возраста, проведенная в данной работе, выявила одну из самых древних мутаций среди известных этноспецифических «якутских болезней», распространенных на территории Республики Саха. Так, в исследованиях мутации в гене *SCA1* спиноцеребеллярной атаксии 1-го типа, расчеты показали, что сменилось 37 поколений после предка, внесшего мутацию, и её возраст составляет 915-1110 лет (Осаковский В.Л. и др., 2004). Подсчитанный возраст двух мутаций 4582insT в гене *CUL7* и G5741→A в гене *NAG*, составляет  $1645 \pm 248,25$  и  $1052 \pm 640,25$  год, соответственно (Максимова Н.Р., 2009). Наиболее вероятный период начала экспансии гаплотипа основателя с мутацией q.-3179IVS1+1G>A в гене *CJB2*, приводящий к нейросенсорной несиндромальной тугоухости, в популяции якутов оценивается в среднем  $2400 \pm 780$  лет (Барашков Н.А. и др., 2010). Время распространения мутации c.806C>T в гене *CYB5R3* при

наследственной энзимопатической метгемоглобинемии в Якутии составило  $285 \pm 135$  лет, период начала распространения мутации соответствует концу XVII – началу XVIII века ( $1715 \text{ год} \pm 135 \text{ лет}$ ) (Галеева Н.М. и др., 2013). Анализ гаплотипов хромосом, несущих данную мутацию в популяции Якутии наряду с высокой частотой гетерозиготного носительства мутации у больных МД в этом же регионе, позволяет предположить действие эффекта основателя в её происхождении и распространении. Высокая частота мутации в Якутии свидетельствует об её локальном накоплении.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе было проведено исследование локуса *DMPK*, ответственного за развитие МД в шести популяциях Северной Евразии. Значение генетической дифференциации популяций по совокупности всех исследуемых SNP-локусов для северо-азиатских выборок составило 11,83 %, что оказалось на порядок выше, чем для двух якутских популяций (0,79%), что демонстрирует неоднородность населения популяций Северной Евразии по сравнению с популяциями, проживающими на территории республики Саха. Для каждой популяции зафиксировано определённое количество CTG-повторов, встречающееся с максимальной частотой. В популяции якутов наблюдалось унимодальное распределение – 89% CTG- аллелей состояли из 11-14 триплетов. Уровень подразделённости ( $F_{ST}$  и  $R_{st}$ ) по CTG-повторам, оказался 3,3% и 2,6%. При сравнении больных МД с популяционной выборкой якутов по частотам SNP-аллелей, достоверно ассоциированными с МД оказались локусы rs1799894, rs915915 и rs10415988. Отношение шансов (OR) развития МД у представителей якутской популяции по этим локусам оценивались как 4,99 (95% CI,  $p=0,000$ ), 2,59 (95% CI,  $p=0,004$ ) и 3,15 (95% CI,  $p=0,010$ ) соответственно. Анализ гаплотипической структуры шести SNP гена *DMPK* у больных миотонической дистрофией из якутской популяции выявил с высокой частотой (40,0%) гаплотип ТТТСТС, ассоциированный с болезнью, а также гаплотипы ТТССГТ и GTССГТ с большой вероятностью играющие протективную роль в отношении МД. Наряду с этим, выявлен уникальный для больных МД якутов гаплотип GTССТТ. После анализа шести STR-маркеров, фланкирующих область экспансии CTG-повторов в гене *DMPK*, был выявлен гаплотип основателя (8-3-6-9-1-2). Далее, в работе были проанализированы совпадения мажорных STR-SNP-гаплотипов на мутантных хромосомах у больных МД якутов. Было показано семь полных STR-SNP-гаплотипов (8-3-T-T-T-C-T-C-6-9-1-2) на хромосоме с экспансией CTG-повторов в гене *DMPK*, что составило 30,4% от всех полных построенных гаплотипов на хромосоме с мутацией в выборке больных МД. В работе также был оценен возраст мутации в гене *DMPK*, который оказался

равным  $3179 \pm 704,84$  лет. Начало распространения мутации связано с доэтническим периодом формирования популяций. Анализ литературных данных позволяет сделать вывод, что мутация распространилась среди якутов прежде всего благодаря эффекту основателя.

### ВЫВОДЫ

1. Оценка уровня генетической дифференциации якутских популяций демонстрирует однородность якутского этноса ( $F_{st} = 0,79\%$ ) по сравнению с популяциями Северной Евразии ( $F_{st} = 11,83\%$ ). Анализ изученных популяций по спектру СТГ-аллелей гена *DMPK* в большинстве случаев зафиксировал бимодальное распределение СТГ-повторов, встречающееся с максимальной частотой, тогда как в популяции якутов наблюдалось унимодальное распределение – аллели (СТГ)<sub>11-14</sub> составили 89%.
2. Анализ SNP-маркеров в локусе *DMPK* выявил два основных SNP-гаплотипа у больных МД. Первый из них (ТТТСТС), встречающийся с частотой 40%, является общим для якутов и всех ранее исследованных популяций. Второй гаплотип (GTCСТТ, 18,3 %) встречался только у якутов и не выявлен среди больных МД из других популяций. Данные гаплотипы также с высокой частотой обнаружены среди здоровых родственников больных (23,8% и 15,8%, соответственно), но очень редко встречаются в общей популяции якутов (7,5% и 5,5%, соответственно).
3. Анализ гаплотипов по STR-маркерам, фланкирующим область СТГ- повторов в гене *DMPK* у больных МД якутов было продемонстрировано 114 гаплотипов, частоты которых варьировали от 0,6 до 8,6%. В популяционной выборке наблюдали 123 гаплотипа с частотой от 0,7 до 2,6%. С максимальной частотой у больных был показан гаплотип 8-3-6-9-1-2, который был оценен как предковый.
4. Оценка возраста мутации МД у якутов и популяционно-генетических механизмов накопления заболевания показала, что мутация возникла  $3179 \pm 704,84$  лет назад в доэтнический период и основным механизмом накопления МД в якутской популяции является эффект основателя.

**Список работ, опубликованных по теме диссертации:**

1. Сухомясова А.Л., Федорова С.А., Коротов М.Н., Максимова Н.Р., Алексеева С.П., Сидорова О.Г., Николаева И.А., Кононова С.К., **Степанова С.К.**, Фатхлитсламова Р.И., Хуснутдинова Э.К., Ноговицына А.Н. Миотоническая дистрофия в Республике Саха (Якутия): Популяционные особенности и подходы к ДНК-тестированию // Якутский медицинский журнал. 2003. №2. С.12-17.
2. Коротов М.Н., Сухомясова А.Л., Максимова Н.Р., Алексеева С.П., Николаева И.А., **Степанова С.К.**, Федорова С.А., Ноговицына А.Н. Миотония Томсена в Якутии и дифференциальная диагностика с миотонической дистрофией // Якутский медицинский журнал. 2004. №2. С.16-19.
3. Sukhomyasova A.L., Maximova N.R., **Stepanova S.K.**, Fedorova S.A., Nogovitsina A.N. Myotonic Dystrophy in Yakutia // European Human Genetics conference. Munich, Germany. 2004. С. 124.
4. **Степанова С.К.**, Сухомясова А.Л., Максимова Н.Р., Степанов В.А. Изучение гаплотипов гена мышечной протеинкиназы в якутской популяции // Материалы межрегиональной научно-практической конференции «Современные аспекты эпидимиологии, диагностики и лечения неврологических заболеваний на Севере» 2-3 октября 2005. Якутск. С. 88-90
5. Максимова Н.Р., Сухомясова А.Л., Коротов М.Н., Сидорова О.Г., Алексеева С.П., Павлов Ф.В., Федорова С.А., **Степанова С.К.**, Ноговицына А.Н. Диагностика врожденной миотонической дистрофии в Республике Саха (Якутия) // Материалы V съезда мед. генетиков. Москва. Медицинская генетика. 2005. №5. С. 223.
6. Кононова С.К., Федорова С.А., **Степанова С.К.**, Сидорова О.Г., Хуснутдинова Э.К. Организационные, методические и этические проблемы ДНК-диагностики моногенных заболеваний в практике медико-генетической консультации Якутии // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Молекулярные методы диагностики моногенных заболеваний: возможности и перспективы». Медицинская генетика. 2006. Т.5 Прил.1. С.14-18.
7. Спиридонова М.Г., **Степанова С.К.**, Трапп Н.В., Сухомясова А.Л., Максимова Н.Р., Гуринова Е.Е., Степанов В.А. Молекулярно-генетическое исследование якутской популяции по локусам гена мышечной протеиназы // Сб. VIII научной конференции с международным участием "Генетика человека и патология". 2007. Томск С. 27-29.

8. **Степанова С.К.**, Кононова С.К., Федорова С.А., Максимова Н.Р., Алексеева С.П., Ноговицына А.Н., Сухомясова А.Л. Молекулярно-генетические методы диагностики наследственных моногенных болезней в РБ№1-НЦМ РС(Я) // Материалы межрегиональной научно-практической конференции «Молекулярно-клеточные аспекты патологии человека на Севере». 2007. Якутск. С.49-51.
9. **Степанова С.К.**, Захарова В.А., Сидорова О.Г., Максимова Н.Р., Сухомясова А.Л. ДНК-тестирование в пренатальной диагностике моногенных болезней в МГК РБ№1-НЦМ // Сб. «Национальный проект – повышение доступности высокотехнологичной медицинской помощи населению РС(Я)». 15 июня 2007 г. г.Якутск. С.218-219.
10. **Степанова С.К.**, Кононова С.К., Федорова С.А., Ноговицына А.Н., Максимова Н.Р., Сухомясова А.Л. Внедрение методов молекулярно-генетической диагностики наследственных моногенных болезней в медико-генетической консультации // Сб. «Национальный проект – повышение доступности высокотехнологичной медицинской помощи населению РС(Я)». 15 июня 2007 г. г.Якутск. С.219-221.
11. **Степанова С.К.**, Сухомясова А.Л., Максимова Н.Р., Степанов В.А. Изучение гаплотипов гена мышечной протеинкиназы в якутской популяции // Материалы межрегиональной научно-практической конференции «Современные аспекты эпидемиологии, диагностики и лечения неврологических заболеваний на Севере». 2008. Якутск. С.88-90.
12. Николаева И.А., Гуринова Е.Е., **Степанова С.К.**, Коротов М.Н., Максимова Н.Р., Сухомясова А.Л. Наследственные заболевания нервной системы у детей в Якутии // Материалы межрегиональной научно-практической конференции "Здоровье детей Севера". 2008 г. С.102-104.
13. Спиридонова М.Г., Трапп Н.В., **Степанова С.К.**, Марусин А.В., Сухомясова А.Л., Степанов В.А. Анализ полиморфных маркеров в гене мышечной протеинкиназы и ассоциация с миотонической дистрофией в якутской популяции. // Якутский медицинский журнал. 2009. №3. С.156-159.
14. Николаева И.А., Коротов М.Н., Гуринова Е.Е., **Степанова С.К.**, Максимова Н.Р., Сухомясова А.Л., Ноговицына А.Н. Наследственные болезни нервной системы в республике Саха (Якутия) // Якутский медицинский журнал. 2009. №2(26). С. 52-54.
15. Сидорова О.Г., Кононова С.К., **Степанова С.К.**, Захарова В.А., Федорова С.А., Ижевская В.Л., Хуснутдинова Э.К. Особенности пренатальной диагностики спиноцереbellлярной атаксии 1-го типа и миотонической

- дистрофии в практике медико-генетической консультации Якутии // Якутский медицинский журнал. 2009. №2(26). С. 64-66.
16. Захарова В.А., **Степанова С.К.**, Сухомясова А.Л., Барашков Н.А., Максимова Н.Р. ДНК-диагностика наследственных моногенных заболеваний // Материалы научно-практической конференции «Итоги и перспективы развития службы охраны материнства и детства в Республике Саха (Якутия).» г.Якутск, 30-31 марта 2009 г. С.71-73
  17. Кононова С.К., Сидорова О.Г., **Степанова С.К.**, Фёдорова С.А., Платонов Ф.А., Ижевская В.Л., Хуснутдинова Э.К. Этические аспекты пренатальной диагностики поздне манифестирующих наследственных заболеваний с динамическими мутациями // Медицинская генетика. 2010.Т 9. №9. С.10-15.
  18. **Степанова С.К.**, Сухомясова А.Л., Максимова Н.Р., Спиридонова М.Г., Степанов В.А. Изучение полиморфных маркеров в гене мышечной протеинкиназы в республике Саха (Якутия) // Сборник трудов VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика-2010». г.Якутск. 2010.Т. 3. С.137-139.
  19. **Степанова С.К.**, Спиридонова М.Г., Марусин А.В., Сухомясова А.Л., Степанов В.А. Протективная роль некоторых гаплотипов гена мышечной протеинкиназы в якутской популяции. // Медицинская генетика. 2010. (Материалы VI съезда РОМГ, 14-18 мая 2010, Ростов-на-Дону). С.172.
  20. Сидорова О.Г., Кононова С.К., Сухомясова А.Л., Степанова С.К., Хуснутдинова Э.К., Ижевская В.Л. Пренатальное ДНК-тестирование распространенных моногенных заболеваний с поздней манифестацией в Якутии // Материалы межрегиональной научно-практической конференции «Современные технологии в акушерстве и гинекологии. Перспективы развития акушерско-гинекологической помощи в рамках концепции развития здравоохранения РФ до 2020 г.» г.Якутск, 19-21 апреля 2010 г. С.28-29.
  21. **Степанова С.К.**, Спиридонова М.Г., Марусин А.В., Сухомясова А.Л., Степанов В.А. Гаплотипическое разнообразие в гене DMPK у больных с миотонической дистрофией в якутской популяции и шести контрольных североазиатских популяциях // Якутский медицинский журнал. 2011. № 4 (36). С. 30-33
  22. **Степанова С.К.**, Сваровская М.Г., Марусин А.В., Сухомясова А.Л., Максимова Н.Р., Степанов В.А. Структура гаплотипов и возраст мутации в гене *DMPK* у якутов // Сб. X научной конференции "Генетика человека и патология".- 2014.Томск, С. 69-72.

23. **Степанова С.К.**, Сваровская М.Г., Марусин А.В., Сухомясова А.Л., Максимова Н.Р., Степанов В.А. Молекулярно-генетический анализ локуса миотонинпротеинкиназы в якутской популяции // VIII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Молекулярная диагностика-2014»: Сб. научных трудов / Отв. ред. В.И. Покровский. Москва, 2014. Том 2. С. 239-240.
24. Swarovskaia M., **Stepanova S.**, Marusin A., Suhomiasova A., Maksimova N., Stepanov V. Haplotype analysis and age of mutation in *DMPK* gene in Yakutia. European Human Genetic Conference 2014. May 31- June3. Milan, Italy. Eur J Hum. Genet. 2014. V. 22. Suppl. 1.P 34.

### Список использованных сокращений

НБНС	– наследственные болезни нервной системы
МГК	– медико-генетическая консультация
МЗ	– мультифакториальные заболевания
ЭНМГ	– электромиография
ЭКГ	– электрокардиограмма
НЗ	– наследственные заболевания
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ПДРФ	– полиморфизм длин рестрикционных фрагментов
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
РС (Я)	– Республика Саха (Якутия)
СЦА1 типа	– спиноцеребеллярная атаксия 1-го типа
АМОВА	– analysis of molecular variance, анализ молекулярной дисперсии
МД	– миотоническая дистрофия
LD	– linkage disequilibrium, неравновесие по сцеплению
NCBI	– National Center for Biotechnology Information, Национальный центр биотехнологической информатизации
OMIM	– Online Mendelian Inheritance in Man - номер наследственной болезни или признака в международном каталоге МакКьюсика
SNP	– single nucleotide polymorphism, однонуклеотидный полиморфизм
STR	– short tandem repeat, короткие тандемные повторы
<i>DMPK</i>	– dystrophia myotonic-protein kinase, ген белка миотонинпротеинкиназы
<i>SCOP</i>	– ген поли-(А)-связывающего белка 2
ХМАО	– Ханты-мансийский национальный округ
kb	– 1 килобаза = 1000 пар оснований

Просьба высылать отзывы на автореферат по адресу:

ФГБНУ «НИИ медицинской генетики»

634050 г.Томск, Набережная реки Ушайки, 10

Ученому секретарю Диссертационного Совета ДМ 001.045.01

Канд.биол.наук Хитринской И.Ю.

Факс +7(3822)51-37-44

E-mail: [i.khitrinskaya@medgenetics.ru](mailto:i.khitrinskaya@medgenetics.ru)