

## Анализ СТG-повторов в гене *DMPK* в популяциях Якутии, Сибири и Средней Азии\*

Сваровская М.Г.<sup>1,2</sup>, Степанова С.К.<sup>3</sup>, Марусин А.В.<sup>1</sup>,  
Сухомясова А.Л.<sup>3</sup>, Максимова Н.Р.<sup>3,5</sup>, Степанов В.А.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> — Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт медицинской генетики», 634050, г.Томск, Набережная реки Ушайки, 10. E-mail: maria.swarovskaja@medgenetics.ru

<sup>2</sup> — Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 634050, г.Томск, Московский тракт, 2

<sup>3</sup> — Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем», 677019, г.Якутск, Сергеляхское ш., 4

<sup>4</sup> — Национальный исследовательский Томский государственный университет, Лаборатория онтогенетики человека 634050, г.Томск, пр.Ленина, 36

<sup>5</sup> — Лаборатория геномной медицины Клиники Медицинского института Северо-Восточного федерального университета, 677019, г.Якутск, ул.Кулаковского, 36

Высокая частота встречаемости на территории Республики Саха одной из так называемых «якутских» болезней — миотонической дистрофии — привлекает внимание к изучению молекулярных основ её возникновения. В работе анализируется генетическая вариабельность локуса миотонинпротеинкиназы (*DMPK*) по спектру распределения тринуклеотидных (СТG) повторов в популяциях различного этнического происхождения, проживающих на территории Якутии, Сибири и Киргизии (якуты, русские, ханты, кеты, буряты и киргизы). Для каждой изученной популяции зафиксировано определённое количество триплетов. В популяции якутов наблюдается унимодальное распределение — аллели (СТG)<sub>11-14</sub> составили 89%. Показатель генетического разнообразия ( $H_e$ ) варьирует от 0,7321 у якутов до 0,8403 у хантов. Охарактеризован уровень подразделённости популяций по СТG-повторам ( $F_{ST}$  и  $R_{ST}$ ), равный соответственно 3,3% и 2,6%.

**Ключевые слова:** ген миотонинпротеинкиназы, тринуклеотидные повторы, полиморфизм, популяция

По результатам эпидемиологических исследований в Республике Саха (Якутия) (РС (Я)) выявлено накопление некоторых моногенных болезней в число которых входит миотоническая дистрофия I типа, возникающая вследствие экспансии тринуклеотидных повторов в гене миотонинпротеинкиназы (*DMPK*). Миотоническая дистрофия (МД, OMIM:160900) — аутосомно-доминантное многосистемное заболевание, характеризующееся широкой вариабельностью манифестации — от рождения до 60 лет и старше [5], клиническим полиморфизмом и варьирующей тяжестью течения. Главные клинические проявления: миотония, мышечная слабость, катаракта, аритмии сердца, облысение со лба, нарушенная толерантность к глюкозе, умственная отсталость.

Вариабельность тракта тринуклеотидных повторов в гене *DMPK* исследуется в различных мировых популяциях [2—8]. Есть данные о распространённости аллелей СТG-повторов в популяциях европейской части России (русские, украинцы, финно-угорские популяции Волго-Уральского региона). Настоящее исследование было направлено на изучение генетической вариабельности локуса *DMPK* в популяциях различного этнического происхождения, проживающих на территории Якутии, Сибири и Киргизии.

В исследовании были использованы образцы ДНК коренных жителей Якутии, проживающих в трёх этногеографических районах РС (Я): центральном, вилюйском и северном (139 чел.). Западная и Восточная Сибирь представлена бурятами из г.Улан-Удэ и пос. Хуромша (95 чел.) (Бурятия), русскими (97 чел.) из Томской области, хантами (95 чел.) из деревни Русскинская Сургутского района Ханты-Мансийского автономного округа, кетами (32 чел.) из пос. Келлог (Туруханский район Красноярского края); Средняя Азия представлена южными киргизами из г.Ош и северными киргизами из пос. Кегеты (96 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.

В работе применялись современные молекулярно-генетические методы: выделение и типирование ДНК; детекция СТG-повторов методом капиллярного гель-электрофореза в денатурирующих условиях на генетическом анализаторе ABI PRISM 3130 xl, используя стандарты длины фрагментов GeneScan-500 TAMRA. Анализ размера фрагментов и генотипирование проводили с использованием программного обеспечения GeneScan Analysis.

\* В статье использованы результаты, полученные в рамках Программы «Научный фонд им. Д.И. Менделеева Томского государственного университета» (в 2014—2015 гг.)

Была проанализирована вариабельность *CTG*-повторов в центромерной области гена *DMPK* в шести изученных популяционных выборках (якуты, кеты, русские, киргизы, буряты, ханты). Частоты аллелей в шести исследованных популяциях по *CTG*-повторам в гене *DMPK* представлены в таблице. Практически во всех популяциях распределение частот генотипов соответствует равновесию Харди—Вайнберга (сдвиг равновесия наблюдается лишь в популяции кетов, что можно объяснить дрейфом генов или малой численностью выборки).

В шести популяциях было найдено от 8 до 17 аллельных вариантов локуса *DMPK*. Они содержали от 3 до 28 *CTG*-мотивов, специфичных 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 были индивидуальными. Интересно, что аллель (*CTG*)<sub>5</sub> характерен для русской популяции (как единственной из шести, несущей в своём генофонде большую долю европеоидного компонента). Остальные пять популяций, являющиеся в большей степени монголоидными, характеризуются аллелями (*CTG*)<sub>11-12</sub>, что хорошо согласуется с данными литературы, демонстрирующими близкие значения по частоте полиморфизма *CTG*-повторов в популяциях, имеющих различное этническое происхождение. Так, Поповой С.Н. и др. [12] был показан ряд различий в спектрах аллельных частот изученных трёх генов (в том числе и

Таблица

Частоты аллелей, гетерозиготность и тест соответствия равновесию Харди—Вайнберга в исследованных выборках по *CTG*-повторам в гене *DMPK*

Аллели	Исследуемые группы					
	Якуты (N = 139)	Русские (N = 97)	Киргизы (N = 96)	Буряты (N = 95)	Ханты (N = 95)	Кеты (N = 32)
	Частоты аллелей					
3				0,016		
4	0,025			0,063	0,053	
5	0,022	0,345	0,198	0,163	0,153	0,156
6		0,005		0,005		
7	0,004		0,005			
8			0,010	0,005		
9		0,016	0,010	0,053	0,011	0,016
10	0,072	0,088	0,146	0,09	0,100	0,345
11	0,317	0,180	0,224	0,279	0,247	0,125
12	0,389	0,119	0,245	0,200	0,242	0,188
13	0,112	0,103	0,063	0,063	0,079	0,109
14	0,004	0,026	0,016	0,005	0,005	
15		0,021	0,031	0,005	0,011	
16			0,010	0,026	0,021	
17		0,005				
18				0,011		
19	0,007		0,016	0,005	0,011	
20	0,007	0,016			0,005	0,031
21	0,007	0,031	0,005		0,016	0,031
22	0,007			0,016	0,016	
23	0,022	0,026	0,016		0,026	
24		0,005	0,005		0,005	
25			0,005			
27	0,007					
28			0,005			
Ожидаемая гетерозиготность (He)	0,73205	0,81652	0,82793	0,83982	0,84027	0,80506
Отклонение X-B (P)	P>0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05	P<0,05

*DMPK*) между разными популяциями. У русских, как и в представленном исследовании, чаще всего наблюдался аллель (CTG)<sub>5</sub>, у якутов — аллели (CTG)<sub>11-12-13</sub>. Близкие к данным литературы значения наблюдались в популяции бурят — это аллели с 13, 12 и 5 CTG-повторами (по нашим данным — аллели с 11, 12 и 5 CTG-повторами). С увеличением доли монголоидного компонента повышалась частота встречаемости аллелей (CTG)<sub>11-12</sub>. Распределение CTG-повторов, подобное описанному в данном исследовании, было продемонстрировано в популяциях Волго-Уральского региона [6], а также в западноевропейских популяциях [4], и у жителей северо-западного региона России [1]. Все шесть изученных популяций продемонстрировали уровень генетического разнообразия (He) — от 0,7321 у якутов до 0,8403 у хантов. При анализе уровня подразделённости обследованных популяций по CTG-повторам были зафиксированы значения генетической дифференциации  $F_{ST}$  и  $R_{st}$ , равные 0,0334 и 0,0262 соответственно.

Популяция якутов выделяется из всех исследованных популяций благодаря особенности распределения частот аллелей CTG-повторов, которое может быть охарактеризовано как унимодальное. Аллели, содержащие от 11 до 14 повторов, составляют 89%, тогда как в большинстве популяций мира локус *DMPK* имеет, как правило, бимодальное распределение. Спектр распределения повторов хорошо согласуется с ранее опубликованными данными [7]. По данным литературы, схожее по характеру распределение частот аллелей обнаружено также и в популяции миштеков — коренных жителей Мексики [10]. Частота аллеля (CTG)<sub>5</sub>, широко распространённого в европейских популяциях, у якутов составила всего 3—5%.

В ряде других работ отечественных и иностранных авторов также исследуются частоты тринуклеотидных CTG-повторов в гене *DMPK* в различных этнических группах. Так, в работе Culikovic и др. [14] оценивалась частота заболеваемости МД и диапазон нормальных аллелей в здоровой югославской популяции. Среди 235 здоровых индивидов было найдено 22 аллеля, содержащих от 5 до 29 CTG-мотивов, из которых наиболее часто встречались аллели (CTG)<sub>5-11-12-13</sub>, что характерно для европеоидов и полностью подтверждается данными настоящего исследования. В этой же работе наблюдалась относительно высокая частота «длинных» нормальных аллелей. Так называемые «длинные аллели» (CTG)<sub>19-28</sub>, как видно из таблицы, также присутствуют во всех изученных популяциях нашего исследования, но их частоты очень незначительны (от 0,005 до 0,031), что согласуется с данными литературы, показанными в западноевропейских популяциях и в популяциях Волго-Уральского региона [6, 14]. Проведённое исследование женщин детородного возраста (N = 2489) в корейской популяции [16] продемонстрировало высокую частоту аллелей, несущих 12 и 13 повторов (0,284 и 0,209 соответственно). В исследовании А.Л. Сухомясовой [9] было показано,

что структура CTG-повторов в популяции якутов свидетельствует об их унимодальном распределении. Результаты нашего сравнительного исследования на более обширной выборке, состоящей из нескольких популяционных групп, подтверждают это.

Таким образом, в работе были охарактеризованы шесть популяций по спектру CTG-аллелей гена *DMPK*. Для каждой популяции зафиксировано определённое количество CTG-повторов, встречающихся с максимальной частотой. В популяции якутов наблюдается унимодальное распределение — аллели (CTG)<sub>11-14</sub> составляют 89%. Охарактеризован уровень подразделённости популяций по CTG-повторам.

### Список литературы

1. Малышева О.В., Иващенко Т.Э., Васильева Т.Н. и др. Изучение аллельного полиморфизма и анализ гаплотипов гена мышечной протеинкиназы у жителей Северо-Западного региона России и у больных миотонической дистрофией // Генетика. — 1998. — №2(34). — С. 295—299.
2. Сухомясова А.Л. Аутосомно-доминантная миотоническая дистрофия в Республике Саха (Якутия): Автореф. дисс. на соискание ученой степени к.м.н. — Томск, 2005. — 22 с.
3. Acton R.T., Rivers C.A., Watson B., Oh S.J. *DMPK* — associated myotonic dystrophy and CTG repeats in Alabama African Americans // Clin. Genet. — 2007. — Vol. 72 (5). — P. 448—453.
4. Culjkovic B., Stojkovic O., Vukosavic S. et al. CTG repeat polymorphism in *DMPK* gene in healthy Yugoslav population // Acta Neurol. Scand. — 2002. — Vol. 105. — P. 55—58.
5. Emery A.E.N. *Neuromuscular Disorders: Clinical and Molecular Genetics*. Chichester — New York — Weinheim — Brisbane — Singapore — Toronto, 1998. — P. 322—355.
6. Fatkhislamova R.I., Khidiatova I.M., Khusnutdinova E.K. et al. Analysis of polymorphism of CTG repetitive sequences in the gene of myotonic dystrophy in human populations of the Volga-Ural region // Genetika. — 1999. — Vol. 35. (7). — P. 988—993.
7. Fedorova S.A., Khusainova R.I., Kutuev I.A. et al. Polymorphism of CTG-repeats in the *DMPK* gene in populations of Yakutia and central Asia // Mol. Biol. — 2005. — Vol. 39(3). — P. 385—393.
8. Freitas S.R.S., Cabello P.H., Rodrigo Soares Moura-Neto2, Luiz Alves Duro. Analysis of the *DMPK* gene CTG repeat in healthy Brazilians // Genetics and Molecular Biology. — 2007. — Vol. 30, №1. — P. 14—16.
9. Jang J.-H., Lee J.W., Cho E.-H. et al. Frequency of *DMPK* mutation carriers in Korean women of childbearing age // Clinical Genetics. — 2014. — Vol. 86, №4. — P. 398—399.
10. Magana J.J., Cortes-Reynosa P., Escobar-Cedillo R., Gomez R., Leyva-Garcia N., Cisneros B. Distribution of CTG repeats at the *DMPK* gene in myotonic dystrophy patients and healthy individuals from the Mexican population // Mol. Biol. Rep. — 2011. — №38(2). — P. 1341—1346.
11. Pan H., Lin H., Ku W., Li T., Li S., Lin C., Hsiao K. Haplotype analysis of the myotonic dystrophy type 1 (DM1) locus in Taiwan: implications for low prevalence and founder mutations of Taiwanese myotonic dystrophy type 1 // Eur. J. Hum. Genet. — 2001. — Vol. 9. — P. 638—641.
12. Popova S.N., Slominsky P.A., Pocheshnova E.A. et al. Polymorphism of trinucleotide repeats in loci DM, DRPLA and SCA1 in East European populations // Eur. J. Hum. Genet. — 2001. — Vol. 9. — P. 829—835.

13. Priyadarshi. Effects of uremic serum on isolated cardiac myocyte calcium cycling and contractile function // *Kidney Int.* — 2001. — Vol. 60 (6). — P. 2367–2376.

14. Slominskii P.A., Popova S.N., Shadrina M.I. et al. Normal polymorphism of the (CTG)<sub>n</sub> repeat in the myotonin protein kinase (DM) gene on chromosome 19q13.3 in Western European populations // *Genetika.* — 2000. — Vol. 36 (7). — P. 980–985.

15. Tishkoff S.A., Goldman A., Calafell F. et al. A global haplotype analysis of the myotonic dystrophy locus, implications for the evolution of modern humans and for the origin of myotonic dystrophy mutations // *Am. J. Hum. Genet.* — 1998. — Vol. 62. — P. 1389–1402.

16. Tweerasawat S., Papsing C., Pulkes T. CTG repeat lengths of the gene in myotonic dystrophy patients compared to healthy controls in Thailand // *J. Clin. Neurosci.* — 2011. — Vol. 17 (12). — P. 1520–1520.

## Analysis of the CTG-repeats *DMPK* gene in populations of Yakutia, Siberia and Central Asia

Swarovskaya M.G.<sup>1,2</sup>, Stepanova S.K.<sup>3</sup>, Marussin A.V.<sup>1</sup>, Sukhomyasova A.L.<sup>3</sup>, Maximova N.R.<sup>3,5</sup>, Stepanov V.A.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> — Institute of Medical Genetics. Russian Academy of Sciences. Tomsk. Russia; e-mail: maria.swarovskaja@medgenetics.ru

<sup>2</sup> — Siberian State Medical University. Tomsk. Russia

<sup>3</sup> — Yakut Research Center of complex medical problems. Siberian Division. Russian Academy of Sciences. Yakutsk. Russia

<sup>4</sup> — National Research Tomsk State University, Tomsk. Russia

<sup>5</sup> — Laboratory of Genomic Medicine, Clinics of Institute Medicine of the North-Eastern Federal University Ammosov, Yakutsk, Russia

High frequency one of the «Yakut» diseases Myotonic Dystrophy (MD) draws the attention to the study of molecular basis of rise it. In this study the genetic variability of (CTG)-repeats in myotonic dystrophy protein kinase (*DMPK*) gene was analyzed in populations of different ethnic origin (Yakut, Russian, Khanty, Kets, Buryats and Kyrgyz). Specific alleles containing definite number of trinucleotide repeats were found for each population. In Yakut population unimodal distribution of alleles was observed. The (CTG)<sub>11-14</sub> alleles were 89%. Value of heterozygosity in all populations are close to each other. The level of genetic differentiation of populations was 3,3% ( $F_{ST}$ ) and 2,6% ( $R_{ST}$ ).

**Key words:** gene myotoninprotein kinase, trinucleotide repeats polymorphism, population