

УДК 61:575+575.22

ГАПЛОТИПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЛОКУСА ОКУЛОФАРИНГЕАЛЬНОЙ МИОДИСТРОФИИ (ОФМД) В ЯКУТИИ

А. В. Марусин^{1,2}, Х. А. Курганов³, Н. Р. Максимова⁴,
М. Г. Сваровская¹, В. А. Степанов^{1,2}

¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики Российской академии наук, Томск 634050
e-mail: andrey.marusin@medgenetics.ru

²Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск 634050

³Якутский научный центр комплексных медицинских проблем Российской академии наук, Якутск 677013

⁴Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Якутск 677000

Поступила в редакцию 28.05.2015 г.

Окулофарингеальная миодистрофия (ОФМД) – наследственное нервно-мышечное заболевание с аутосомно-доминантным и редко – с аутосомно-рецессивным типом наследования. В работе исследованы 50 больных с клиническим диагнозом ОФМД, 23 пресимптоматических носителя мутации из 45 неродственных семей и 56 здоровых родственников, а также популяционные выборки из четырех этнических групп Якутии: якуты, эвены, эвенки, юкагиры. Установлено, что причиной развития ОФМД во всех исследованных семьях является одинаковое увеличение GCN-повторов в гене *PABPN1* до 14 копий. Мутантный аллель имеет структуру: (GCN)₁₄–(GCG)₁₀(GCA)₃GCG. В локусе ОФМД исследована генетическая вариабельность по 10 SNPs в семьях больных и в популяционных выборках. Методом сегрегационного анализа и с использованием EM-алгоритма установлены гаплотипы локуса ОФМД в группах больных, у носителей мутации и в популяционных выборках. У якутов и русских, больных и носителей мутации ОФМД, обнаружен только один гаплотип по четырем SNPs (ATCG), сцепленный с мутантным аллелем (GCN)₁₄. Вероятно, это свидетельствует о накоплении мутации в результате эффекта основателя.

Ключевые слова: окулофарингеальная миодистрофия, *PABPN1*, анализ гаплотипов, якуты.

DOI: 10.7868/S0016675816030097

Окулофарингеальная миодистрофия (ОФМД, OMIM 164300) – наследственное нервно-мышечное заболевание с аутосомно-доминантным типом наследования, манифестирующее на 5–6-м десятилетии жизни. Также описаны случаи с рецессивным типом наследования [1, 2].

В 1998 г. Vrais с соавт. картировали на 14q11.2-13 хромосоме ген поли-(А)-связывающего белка 2 (*PABPN1*), ответственный за синтез ядерного белка *PABPN1* (фактора полиаденилирования мРНК), а также идентифицировали мутацию, заключающуюся в увеличении числа копий тринуклеотидных GCN-повторов в первом экзоне гена. В норме ген содержит 10 tandemных копий GCN-повторов, а у больных число повторов варьирует от 11 до 17 копий [3, 4]. Область GCN-повторов кодирует 10 аланинов. Нормальный аллель (GCN)₁₀ гена имеет следующую структуру – (GCG)₆(GCA)₃(GCG). Удлинение этого участка может происходить за счет простого увеличения GCG-триплетов [5, 6] или за счет GCA-вставок вместе с увеличением GCG-триплетов [7, 8]. Известны случаи, когда удлинение GCN-повторов

происходит за счет точковой мутации (G → C) в триplete GGG, кодирующем глицин и расположенном сразу после участка GCN-повторов. За этим GGG-повтором следуют два GCG-триплет, что приводит к увеличению GCN-повторов до 13 и формированию патологии [9].

Первоначально считалось, что болезнь вызвана экспансией только GCG-повторов, но, как выяснилось позже, в структуре, кодирующей десять аланинов, имеются и GCA-вставки. Так как GCA и GCG кодируют одну аминокислоту, было принято решение обозначить триплет, удлинение которого приводит к ОФМД, GCN [8, 10].

Механизм экспансии tandemных повторов при ОФМД до сих пор неясен. Высказываются предположения, что он может быть связан с неравным кроссинговером, разнородностью гомологичной рекомбинации, происходящей в зародышевых клетках во время мейоза или митоза [11]. Увеличение количества повторов на один GCN-повтор при гетерозиготном носительстве не приводит к ОФМД и считается полиморфизмом, но описаны больные, гомозиготные по (GCN)₁₁ (аутосомно-

рецессивная ОФМД), у которых наблюдается легкая форма заболевания с поздним началом клинических проявлений [12, 13].

На основании анализа итогов генетико-эпидемиологических исследований менделирующей патологии в населении Республики Саха (Якутия) ранее было выделено несколько форм патологии, названных “якутскими” наследственными болезнями, имеющих высокую распространенность у якутов в сравнении с мировым народонаселением: спиноцеребеллярная атаксия I типа, миотоническая дистрофия, наследственная энзимопеническая метгемоглобинемия и 3-М синдром [14]. К числу таких болезней относится и ОФМД [15].

Нами было установлено, что причиной развития ОФМД во всех исследованных семьях является одинаковое увеличение GCN-повторов до 14 копий в гене *PABPN1*. У всех 50 больных обнаружена мутация (GCN)₁₄. У 23 клинически здоровых родственников выявлено пресимптоматическое носительство мутации (GCN)₁₄. Структура выявленной мутации: (GCN)₁₄-(GCG)₁₀(GCA)₃(GCG), участок кодирует 14 аланинов [15, 16].

Исследования, касающиеся гаплотипического анализа ОФМД с использованием в качестве маркеров коротких tandemных повторов (STR) или однонуклеотидных полиморфных вариантов (SNP), в мире единичны [1, 9, 17]. В России подобные работы до сих пор не проводились.

Цель работы – описать генетическую вариабельность, выявить структуру и распространенность SNP-гаплотипов в локусе гена *PABPN1* в популяциях Якутии, у больных ОФМД и оценить возможные популяционно-генетические причины распространения ОФМД у якутов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе обследовано 50 больных с клиническим диагнозом ОФМД из 45 неродственных семей (из них 45 больных из 42 якутских семей, пять больных из трех русских семей) и 56 здоровых родственников. Также из этих семей изучено 23 носителя мутации якутской национальности без клинических проявлений заболевания. Популяционную выборку составили четыре этнические группы, проживающие на территории Якутии: якуты ($n = 300$), эвены ($n = 70$), эвенки ($n = 50$), юкагиры ($n = 25$). Для сравнения в работе использованы данные по четырем популяционным выборкам из международного проекта “Нар-Мар”: китайцы ($n = 36$), японцы ($n = 38$), выходцы из Северной и Западной Европы (США) ($n = 46$), йоруба (Нигерия) ($n = 52$). Для определения структуры выявленной мутации проводили секвенирование на автоматическом ДНК-анализаторе ABI PRISM 3100 (Applied Biosystems).

В качестве маркеров для изучения локуса ОФМД были выбраны 11 вариантов однонуклеотидного полиморфизма (SNP). Расстояние между крайними маркерами составляет 20581 пару нуклеотидов в локусе гена *PABPN1*, фланкирующих район GCN-повторов.

Генотипирование проводили методом ПЦР-ПДРФ. В табл. 1 приведены 11 изученных SNPs, их позиции на хромосоме, структура праймеров, температуры отжига и ферменты рестрикции. Для двух SNPs (rs2239579 и rs1054084) были использованы праймеры, описанные в литературе [18, 19]. Для остальных девяти SNPs условия генотипирования были подобраны в настоящей работе. Из-за мономорфности SNP rs1054084 был исключен из дальнейшего анализа. Для rs1950252, rs2295126 были разработаны условия генотипирования с помощью ПЦР-ПДРФ с использованием нативных сайтов рестрикции (табл. 1). Для шести SNPs (rs2231301, rs1535094, rs7142474, rs2268330, rs7161120, rs481469) были созданы модифицированные праймеры, приводящие к появлению искусственного сайта рестрикции для соответствующего фермента (табл. 1).

Мутация в локусе тринуклеотидных GCN-повторов расположена между пятым и шестым SNPs (rs2239579 и rs8020117). Стандартизованную меру неравновесия по сцеплению D' рассчитывали по Левонтину [20]. Сильное сцепление между локусами соответствует значению $D' = 1$ и $LOD \geq 2$ (лод-балл; логарифм отношения шансов за и против сцепления). Блоки неравновесия по сцеплению определяли в программе Haplowiew 4.0 по алгоритму Solid spine. Для расчета гаплотипических частот использовали EM-алгоритм (Expectation maximization), реализованный в программах Haplowiew 4.0 и Arlequin [21].

Наряду с использованием EM-алгоритма структуру гаплотипов по 10 изученным полиморфным вариантам устанавливали с помощью семейного анализа, исходя из гомозиготного состояния SNP в каждом из локусов, где это было возможным (прямым наблюдением).

Филогенетический анализ взаимоотношений SNP-гаплотипов выполняли, конструируя филогенетические деревья гаплотипов по алгоритму медианных сетей (“median joining” [MJ] network), реализованному в программе Network [22]. Статистическая обработка результатов проводилась с помощью пакетов статистических программ Office Microsoft Excel 2007, Arlequin 3.5.1.3, Haplowiew 4.0, Network 4.5.1.6.

Таблица 1. Последовательность праймеров и условия ПЦР

Ген	Полиморфизм	Структура праймеров	Tm, °C; фермент рестрикции	Локализация	Литература
<i>PABPN1</i>	(GCN) ₁₄ экзон 1	F: 5'-cgcagtgccccgccttaga-3' R: 5'-acaagatggcgccgccccggc-3'	60	860513– 860561	[18]
<i>BCL2L2</i>	rs2231301 экзон 3	F: 5'-tcatgccagttttcatcctt-3' R: 5'-aacatcatcctccagctgcccgcatggctggtcag-3'	65 <i>Bst</i> 4CI	846939	–
	rs1950252 экзон 4	F: 5'-tgtgatgctgggctcctggcaaatcgtggtg-3' R: 5'-cagaactgctctctctctcaag-3'	60 <i>Asu</i> HPI	848538	–
	rs1535094 экзон 4	F: 5'-ttggaactcgagtcctct-3' R: 5'-aatctccaagaagatcaacctggtctagctcag-3'	65 <i>Pvu</i> II	849474	–
	rs7142474 межген.	F: 5'-cgtcttctggggcacagat-3' R: 5'-aaaaataaatgaatgaatactgtatttaggac-3'	63 <i>Bam</i> HI	855445	–
<i>PABPN1</i>	rs2239579 экзон 1	F: 5'-cctggatgggaaagtaagc-3' R: 5'-gaggcccaaacagagcagc-3'	64 <i>Hsp</i> AI	859899	[7, 9]
	rs8020117 интрон 2	F: 5'-acgctttaggattctaagagaagc-3' R: 5'-cagtacgtacattgccaacatagat-3'	60 <i>Taq</i> I	861859	–
	rs2295126 экзон 3	F: 5'-ctgctatgactaggcactattctc-3' R: 5'-aataattccccaaaagaagaactg-3'	56 <i>Asu</i> HPI	862055	–
	rs1054084 экзон 7	F: 5'-aaaacagaagatgaccttgatgga-3' R: 5'-gggaaggaacaacagaaacagtt-3'	54 <i>Hsp</i> AI	864647	[7]
	rs2268330 3'-UTR	F: 5'-gaaaaggtagctgggtgagc-3' R: 5'-tactgacctaatggcgtttgtgtcctcgtgta-3'	60 <i>Rsa</i> I	865816	–
	rs7161120 3'-UTR	F: 5'-ggagtgaggattgaggtga-3' R: 5'-taaccataaacagaaagtagaataaatgaccggat-3'	52 <i>Bam</i> HI	867041	–
	rs4981469 3'-UTR	F: 5'-aaaattcctaaaaaagtactttaaaagatagtg-3' R: 5'-agaagtttgaggctgagca-3'	64 <i>Bst</i> MAI	867520	–

Примечание. Замененные нуклеотиды в последовательностях праймеров подчеркнуты; Tm – температура отжига праймеров; локализация на хромосоме указана по референсной последовательности базы данных NCBI (URL = <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Структура SNP-гаплотипов и неравновесия по сцеплению в локусе ОФМД

В выборке носителей мутации (GCN)₁₄ (больных и здоровых) общей численностью 73 человека, из которых 68 – якуты и пять – русские, обнаружено 15 мультилокусных генотипов по 10 SNP. По результатам генотипирования выявлено, что все исследованные индивиды были гетерозиготными носителями мутации (GCN)₁₄.

Анализ структуры SNP-гаплотипов и неравновесия по сцеплению (LD) в локусе ОФМД с помощью EM-алгоритма выявил в исследованных группах больных якутов, русских, их здоровых родственников и популяционных выборках 52 гаплотипа. Наибольшее число гаплотипов обнаружено у якутов (35), наименьшее – у больных русских (2). Частота гаплотипов составила от 0.2 до 71.8%. Всего в исследовании выявлено 14 основных гаплотипов, встречающихся с частотой более 5% (табл. 2).

Наиболее частый гаплотип, выявленный при прямом анализе, совпадает с наиболее частым гаплотипом по данным EM-алгоритма (гаплотип № 1, см. табл. 2). Последовательность этого гаплотипа (GGGATCGCCC) обнаружена у 20% носителей мутации и больных якутов. Два других гаплотипа, обнаруженных у гомозигот по 10 SNPs GGGATCGGCC (17.65%) и GGGATCGGCG (1.47%), совпали с гаплотипами № 3 и 9, выявленными по данным EM-алгоритма.

Таким образом, у носителей мутации по 10 SNPs восстанавливаются три гаплотипа, однозначно ассоциированных с мутацией. Наиболее вероятным предковым гаплотипом, несущим мутацию, является гаплотип № 1 (GGGATCGCCC). Он выявляется с большей частотой у больных и носителей мутации якутов как методом прямого наблюдения гомозигот по 10 SNPs, так и с помощью EM-алгоритма.

На рис. 1 показана структура LD между исследованными маркерами локуса ОФМД в популяционных выборках Якутии и в четырех популяциях из международного проекта “НарМар”. У яку-

Таблица 2. Распределение частот гаплотипов (в %) по 10 SNPs локуса ОФМД в исследованных выборках

№	Гаплотип 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	Больные и носители мутации якуты (N = 68)	Больные и носители мутации русские (N = 5)	Здоровые родственники (N = 56)	Якуты (N = 298)	Эвенки (N = 50)	Эвены (N = 70)	Юкагиры (N = 25)	Европейцы (N = 46)	Японцы (N = 36)	Китайцы (N = 38)	Йоруба (N = 52)
1	GGGATCGCCC	48.6	40.0	32.7	7.9	1.6	13.3	48.0	68.4	48.7	36.1	71.8
2	GGGATCGCCG	2.9	–	1.8	5.6	3.0	16.9	10.0	–	–	–	–
3	GGGATCGGCC	14.4	60.0	5.7	35.9	41.4	15.1	–	–	–	–	–
4	AGGACCGGCG	14.6	–	27.7	0.5	2.0	18.4	10.0	23.9	35.5	52.8	–
5	AGGATCGGCG	1.5	–	4.8	0.9	13.5	–	2.0	1.1	–	–	–
6	AGGACCGCCC	–	–	–	10.3	3.0	–	–	–	–	–	–
7	AGGACCGCCG	–	–	3.9	16.8	9.9	12.7	2.0	1.1	–	–	–
8	GGGACCGCCG	–	–	2.2	1.6	14.0	2.6	–	–	–	–	–
9	GGGATCGGCG	7.1	–	9.1	6.6	1.0	3.8	2.0	2.2	–	–	–
10	GGGACCGGCG	6.1	–	6.7	3.8	–	1.8	14.0	–	2.7	2.8	–
11	AGGATCGCCC	–	–	–	3.0	–	–	–	–	–	–	1.9
12	AGGATCGCCG	–	–	–	0.9	8.5	4.5	8.0	–	–	–	–
13	GGGATCACCC	–	–	1.0	0.2	–	–	–	3.3	3.9	1.4	17.6
14	AGGACCGGCC	–	–	1.1	0.8	–	8.0	–	–	–	–	–
15	Остальные гаплотипы	4.8	0	3.3	5.2	2.1	2.9	4	0	9.2	6.9	8.7
	Число найденных гаплотипов	13	2	14	35	12	13	10	6	10	6	10

Примечание. N (для табл. 2, 3) – количество индивидов в выборке. Полу жирным шрифтом выделен предполагаемый предковый гаплотип для больных ОФМД и носителей мутации; полу жирным курсивом выделены частоты гаплотипов, обнаруженные у больных и носителей мутации из гомозиготных десятилокусных генотипов. Порядок SNP в гаплотипе: 1 – rs2231301, 2 – rs1950252, 3 – rs1535094, 4 – rs7142474, 5 – rs2239579, 6 – rs8020117, 7 – rs2295126, 8 – rs2268330, 9 – rs7161120, 10 – rs4981469.

тов выявлено три блока сцепления: блок 1 состоит из трех близко расположенных полиморфных вариантов (rs2231301, rs1950252, rs1535094), блок 2 включает четыре рядом расположенных SNPs rs7142474, rs2239579, rs8020117 и rs2295126, блок 3 состоит из двух полиморфных вариантов rs7161120 и rs4981469. В остальных популяциях выявлено по одному блоку, включающему разное количество SNP. Исключение составила популяция эвенков, у которых выявлено два блока. Вероятно, обнаруженные только у якутов три блока сцепления являются следствием большей выборки, а не отсутствия рекомбинации в этом участке у остальных этнических групп. Следует отметить, что два гаплотипа, обнаруживающих ассоциацию с болезнью, являются наиболее частыми и встречаются как у якутов-носителей мутации, так и у больных русских, а третий относительно редок и обнаружен только у якутов. Гаплотипы № 1 и 3 могут быть получены один из другого путем ре-

комбинации между двумя блоками SNP, выявленными в HaploView 4.1. Гаплотип № 9 является либо результатом мутации, произошедшей в гаплотипе № 3, либо результатом рекомбинации внутри третьего блока SNP.

Филогенетический анализ гаплотипов в локусе ОФМД

В работе проведен филогенетический анализ гаплотипов второго блока сцепления (включающего мутацию ОФМД), обнаруженного в якутской популяции.

Медианная сеть гаплотипов второго блока LD, сцепленного с мутацией (GCN)₁₄, двух групп больных ОФМД (больные якуты и больные русские), одной выборки здоровых родственников больных ОФМД и восьми этнических выборок представлена на рис. 2. В табл. 3 приведены частоты гаплотипов. Предковый гаплотип, определен-

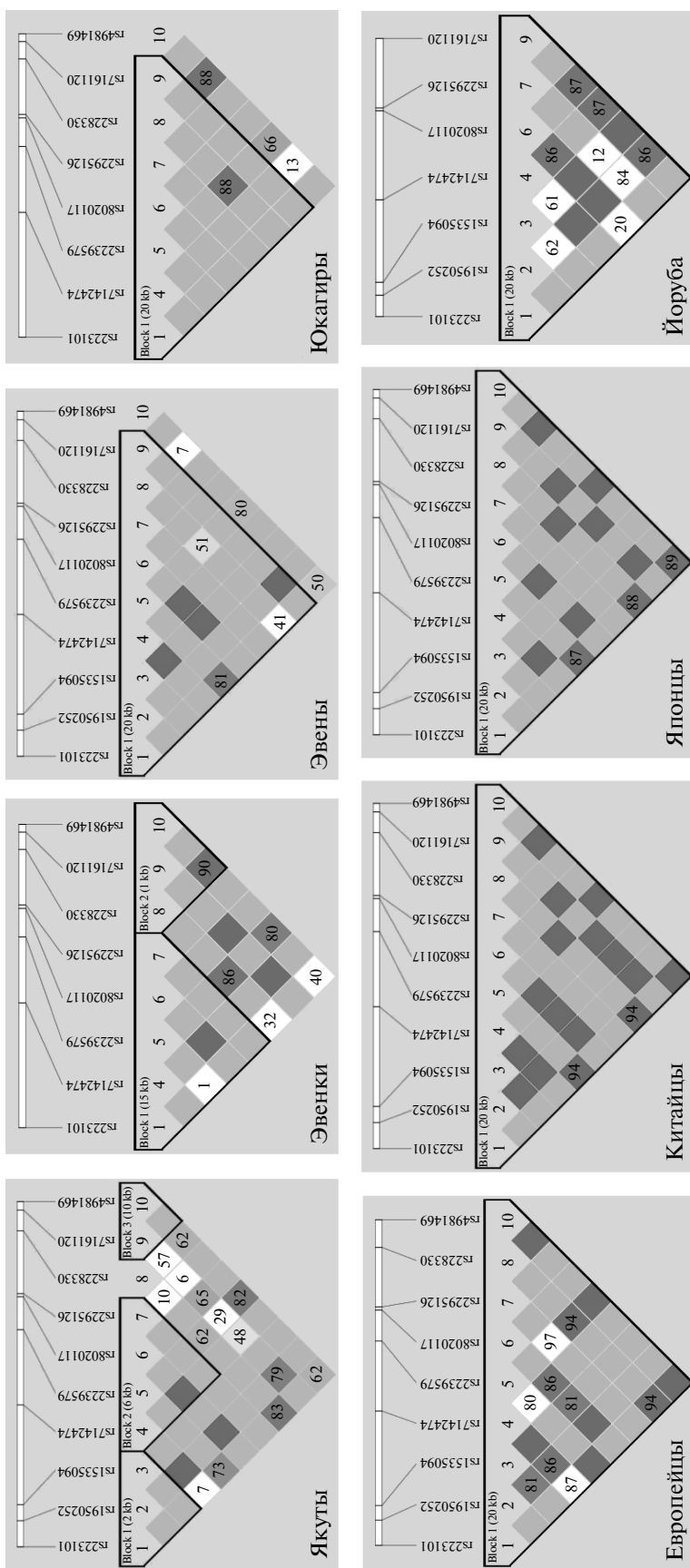


Рис. 1. Структура неравновесия по сцеплению в локусе ОФМД в исследованных популяциях. Цветовая гамма отображает силу сцепления между SNPs: темно-серый цвет – сильное сцепление ($D' = 1$, $LOD \geq 2$), серый – значительное сцепление ($D' < 1$, $LOD > 2$), белый – слабое сцепление ($D' < 2$). Ячейка светлого серого цвета обозначает невозможность расчета неравновесия по сцеплению вследствие низкой частоты минорного аллеля полиморфизма ($D' = 1$, $LOD < 2$). Номерами с 1 по 10 обозначены варианты полиморфизма: rs2231301, rs1950252, rs1535094, rs7142474, rs2239579, rs8020117, rs2295126, rs1054084, rs2268330, rs7161120 соответственно.

ный по базе Национального центра биотехнологической информации (NCBI, США), показанный на рисунке стрелкой, обнаружен почти во всех выборках кроме больных русских, эвенков и юкагиров и имеет аллельную структуру ATCA (SNP 4-7; Ht4). Этот исходный для человечества гаплотип встречается наиболее часто в выборке йоруба (17.6%, см. табл. 3). У африканской популяции йоруба по сравнению с другими выборками обнаружено относительно высокое разнообразие гаплотипов (6 из 11 возможных). Популяционная выборка якутов характеризуется наличием пяти гаплотипов. У якутов больных и носителей ОФМД выявлено четыре гаплотипа (ATCG, ACCG, ATCA, GTTG), а у здоровых родственников – пять.

Прямой анализом выявлен один гаплотип, ассоциированный непосредственно с мутацией (GCN)₁₄, у больных как в группе русских, так и якутов, который, вероятнее всего, является гаплотипом-основателем (гаплотип Ht5; ATCG, см. рис. 2). Этот же гаплотип представлен и у всех пяти русских больных ОФМД. Он отстоит от предкового гаплотипа по базе NCBI (ATCA) на один мутационный шаг (ATCG).

По результатам исследования наибольшее число гаплотипов выявлено в популяции йоруба, у здоровых родственников якутов больных ОФМД и в популяции якутов (шесть и по пять гаплотипов соответственно). Популяции эвенков, эвенов, юкагиров, китайцев, японцев и выборка

якутов, носителей мутации ОФМД, характеризовались наличием четырех гаплотипов. Три гаплотипа обнаружено у европейцев.

ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что причиной развития ОФМД во всех семьях, исследованных в настоящей работе, является одинаковое увеличение GCN-повторов до 14 копий в гене *PABPN1*. Определена структура выявленной мутации: (GCN)₁₄–(GCG)₁₀(GCA)₃(GCG). Такая же экспансия GCN-повторов в первом экзоне гена *PABPN1* за счет простого увеличения числа GCG-повторов ранее обнаружена и в других популяциях мира: у каджунов (франкоязычных жителей штата Луизиана, США) [2], в Германии [11], Италии [7], Таиланде [23] и Великобритании [24]. Но все описанные случаи – единичные [1, 10, 18, 25, 26]. Накопление ОФМД в мире в отдельных популяциях в основном обусловлено мутациями (GCN)₁₁, (GCN)₁₂ [27], (GCN)₁₃ [1, 19, 28] и (GCN)₁₅ [18, 19].

В данном сравнительном исследовании показано, что структура неравновесия по сцеплению в гене *PABPN1* носит популяционно-специфичный характер и различается у всех шести изученных популяций. Максимальное количество гаплотипических блоков (3) отмечено у якутов, а минимальное (1 блок) – у эвенков, юкагиров и в популяциях из международного проекта “НарМар”

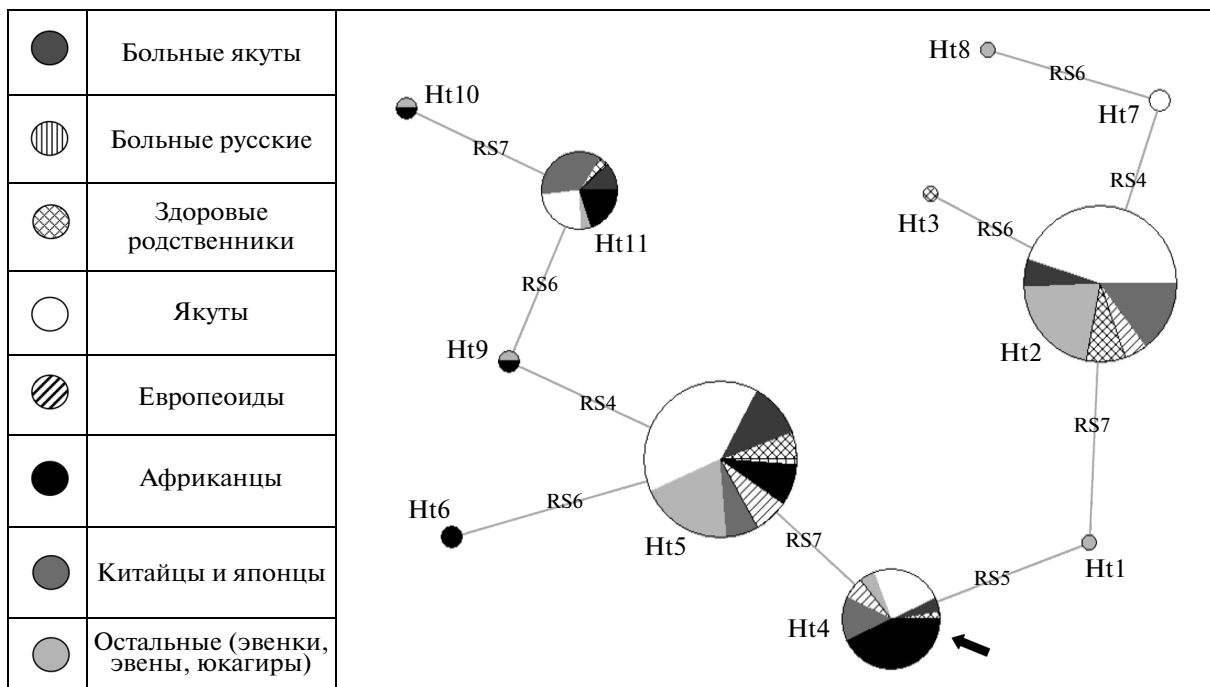


Рис. 2. Медианная сеть гаплотипов (Ht) групп больных ОФМД и носителей мутации, выборки здоровых родственников больных ОФМД якутов и восьми этнических выборок на основе четырех SNPs: rs7142474, rs2239579, rs8020117, rs2295126 (второй LD-блок у якутов).

Таблица 3. Распределение частот гаплотипов (в %) локуса ОФМД в исследованных выборках во втором блоке сцепления популяционной выборки якутов

Номер гаплотипа (Ht)	Гаплотип	Больные и носители мутации якуты (N = 68)	Больные и носители мутации русские (N = 5)	Здоровые родственники (N = 56)	Якуты (N = 298)	Эвенки (N = 50)	Эвены (N = 70)	Юкагиры (N = 25)	Европейцы (N = 46)	Японцы (N = 36)	Китайцы (N = 38)	Йоруба (N = 52)
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Ht1	ACCA	–	–	–	–	1.00	–	–	–	–	–	–
Ht2	ACCG	20.77	–	42.71	36.58	29.00	43.57	26.00	25.00	42.11	55.56	–
Ht3	ACTG	–	–	1.04	–	–	–	–	–	–	–	–
Ht4	ATCA	1.54	–	1.04	1.68	–	1.43	–	3.26	6.58	1.39	17.54
Ht5	ATCG	75.38	100.00	54.17	60.39	69.00	54.29	70.00	71.74	46.05	36.11	73.79
Ht6	ATTG	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1.94
Ht7	GCCG	–	–	–	0.34	–	–	–	–	–	–	–
Ht8	GCTG	–	–	–	–	1.00	–	–	–	–	–	–
Ht9	GTCCG	–	–	–	–	–	–	2.00	–	–	–	0.98
Ht10	GTTA	–	–	–	–	–	–	2.00	–	–	–	0.73
Ht11	GTTG	2.31	–	1.04	1.01	–	0.71	–	–	5.26	6.94	5.02
Число гаплотипов		4	1	5	5	4	4	4	3	4	4	6

Примечание. Полужирным шрифтом выделен предковый для человека гаплотип; полужирным курсивом выделен возможный гаплотип основателя распространения ОФМД в якутской популяции.

(www.harmap.org) — японцев, китайцев, европейцев и африканцев (йоруба). Наблюдаемая в исследованных популяциях различная степень гаплотипического разнообразия характеризовалась наличием одинаковых для всех выборок основных гаплотипов.

В составе 10 локусных SNP-гаплотипов выявлено три гаплотипа, несущих мутацию. С учетом блочной структуры неравновесия по сцеплению в пределах блока неравновесия, включающего точку мутации, обнаружен один гаплотип (ATCG), сцепленный с мутантным аллелем (GCN)₁₄, что, вероятно, свидетельствует о накоплении мутации в результате эффекта основателя.

На сегодняшний день известно, что высокая частота ОФМД встречается только в трех–четырех популяциях мира, характеризующихся сильным эффектом основателя. Учитывая, что по результатам настоящего исследования для якутской популяции также отмечена высокая частота ОФМД, можно предположить эффект основателя на ранних этапах этногенеза. Возможно, это обусловлено прохождением популяции якутов в процессе этногенеза через “бутылочное горлышко”. В этом случае, в момент значительного сокращения численности якутов, должно было наблюдаться

очень низкое гаплотипическое разнообразие с последующим ростом молекулярного разнообразия гаплотипов. Низкий уровень генетического разнообразия в популяциях якутов по сравнению с другими популяциями Евразии был показан при анализе линий митохондриальной ДНК, Y-хромосомы, аутомных микросателлитных локусов (STR) и локусов Alu-повторов [29].

На основании данных генетико-эпидемиологических исследований якутского населения выделено несколько форм этноспецифической патологии, названных “якутскими” наследственными болезнями. Помимо ОФМД к “якутским” наследственным болезням относят спиноцеребеллярную атаксию I типа (OMIM 164400), митохондриальную дистрофию (OMIM 160900), наследственную энзимопеническую метгемоглобинемию I типа (OMIM 250800), “якутский синдром низкорослости” (или синдром 3-M (OMIM 273750)), аутомно-рецессивную глухоту типа 1A (OMIM 220290), синдром низкорослости с атрофией зрительных нервов и пельгеровской аномалией лейкоцитов (или SOPH-синдром (OMIM 614800)) [30]. Распространенность этих болезней значительно выше, чем в мировом народонаселении. Для каждого заболевания выявлены особенности

молекулярной природы, отличающие их от сходных фенотипов в других популяциях, в которых они встречаются значительно реже [14]. Ранее была исследована генетическая вариабельность и структура SNP-гаплотипов в гене *DMPK* у якутов и других этносов Северной Евразии в связи с миотонической дистрофией [31].

Результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что ОФМД, как и другие этноспецифические болезни у якутов, распространилась с высокой частотой в силу эффекта основателя. Поскольку предковый для якутов гаплотип локуса ОФМД обнаружен и в популяции русских из Иркутской области, можно предположить, что этот гаплотип является довольно древним и был распространен, вероятно, с низкой частотой на обширной территории Евразии. Возможно, в Якутии он получил широкое распространение в результате эффекта основателя в ходе расселения предков якутов по территории современной Республики Саха (Якутия).

Работа проведена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 15-04-02442.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Blumen S.C., Korczyn A.D., Lavoie H. et al. Oculopharyngeal MD among Bukhara Jews is due to a founder (GCG)₉ mutation in the PABP2 gene // *Neurology*. 2000. V. 55. № 9. P. 1267–1270.
2. Scacheri P.S., Garcia C., Hébert R., Hoffman E.P. Unique PABP2 mutations in “Cajuns” suggest multiple founders of Oculopharyngeal muscular Dystrophy in populations with French ancestry // *Am. J. Med. Gen.* 1999. V. 86. № 5. P. 477–481.
3. Brais B. Oculopharyngeal muscular dystrophy: a late-onset polyalanine disease // *Cytogenet. Genome Res.* 2003. V. 100. № 1–4. P. 252–260.
4. Robinson D.O., Hammans S.R., Read S.P. et al. Oculopharyngeal muscular dystrophy (OPMD): analyses of the PABPN1 gene expansion sequence in 86 patients reveals 13 different expansion types and further evidence for unequal recombination as the mutational mechanism // *Hum. Genet.* 2005. V. 116. № 4. P. 267–271.
5. Blumen, S.C., Brais B., Korczyn A.D. et al. Homozygotes for oculopharyngeal muscular dystrophy have a severe form of the disease // *Ann. Neurol.* 1999. V. 46. № 1. P. 115–118.
6. Gambelli S., Malandrini A., Ginanneschi F. et al. Mitochondrial abnormalities in genetically assessed oculopharyngeal muscular dystrophy // *Eur. Neurol.* 2004. V. 51. № 3. P. 144–147.
7. Mirabella M., Silvestri G., de Rosa G. et al. GCG genetic expansions in Italian patients with oculopharyngeal muscular dystrophy // *Neurology*. 2000. V. 54. № 3. P. 608–614.
8. Nakamoto M., Nakano S., Kawashima S. et al. Unequal crossing-over in unique PABP2 mutations in Japanese patients // *Arch. Neurol.* 2002. V. 59. № 3. P. 474–477.
9. Robinson D.O., Wills A.J., Hammans S.R. et al. Oculopharyngeal muscular dystrophy: a point mutation with mimics the effect of the PABPN1 gene triplet repeat expansion // *J. Med. Genet.* 2006. V. 43. № 5. P. 23–24.
10. Braise B., Bouchard J.-P., Xie Y.G. et al. Short GCG expansions in the PABP2 gene cause oculopharyngeal muscular dystrophy // *Nat. Gen.* 1998. V. 18. № 2. P. 164–167.
11. Müller T., Schröder R., Zierz S. GCG repeats and phenotype in oculopharyngeal muscular dystrophy // *Muscle & Nerve*. 2001. V. 24. № 1. P. 120–122.
12. Hebbar S., Webberley M.J., Lunt P. et al. Siblings with recessive oculopharyngeal muscular dystrophy // *Neuromusc. Disord.* 2007. V. 17. № 3. P. 254–257.
13. Werling S., Schrank B., Eckardt A.J. et al. Oculopharyngeal muscular dystrophy as a rare cause of dysphagia // *Annals Gastroenterology*. 2015. V. 28. № 2. P. 291–293.
14. Пузырёв В.П., Максимова Н.П. Наследственные болезни у якутов // *Генетика*. 2008. Т. 44. № 10. С. 1317–1324.
15. Максимова Н.П. Клинико-генеалогическая и молекулярно-генетическая характеристика этноспецифических форм наследственной патологии у якутов: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Томск: Якутский научный центр комплексных медицинских проблем СО РАМН и НИИ медицинской генетики СО РАМН, 2009. 43 с.
16. Куртанов Х.А., Максимова Н.П., Степанов В.А., Сухомясова А.Л. Внедрение ДНК-диагностики окулофарингеальной миодистрофии в практику медико-генетического консультирования Республики Саха (Якутия) // *Якутский мед. журн.* 2008. Т. 24. № 4. С. 43–46.
17. Куртанов Х.А., Максимова Н.П., Марусин А.В., Степанов В.А. Полиморфизм локуса ОФМД в популяциях Якутии // *Якутский мед. журн.* 2009. Т. 26. № 2. С. 54–58.
18. Rodriguez M., Camejo C., Bertoni B. et al. (GCG)₁₁ founder mutation in the PABPN1 gene of OPMD Uruguayan families // *Neuromusc. Disord.* 2005. V. 15. № 2. P. 185–190.
19. Rivera D., Mejia-Lopez H., Pompa-Mera E.N. et al. Two different PABPN1 expanded alleles in a Mexican population with oculopharyngeal muscular dystrophy arising from independent founder effects // *Brit. J. Ophthalmol.* 2008. V. 98. P. 998–1002.
20. Lewontin R.C. The interaction of selection and linkage. I. General considerations; heterotic models // *Genetics*. 1964. V. 49. № 1. P. 49–67.
21. Excoffier L., Laval G., Schneider S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis // *Evol. Bioinform. Online*. 2005. V. 1. P. 47–50.
22. Bandelt H.J., Forster P., Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // *Mol. Biol. Evol.* 1999. V. 16. № 1. P. 37–48.
23. Pulkes T., Papsing C., Busabaratana M. et al. Mutation and haplotype analysis of oculopharyngeal muscular dystrophy in Thai patients // *J. Clin. Neurosci.* 2011. V. 18. № 5. P. 674–677. DOI: 10.1016/j.jocn.2010.08.020
24. Hill M.E., Creed G.A., McMullan T.F. et al. Oculopharyngeal muscular dystrophy. Phenotypic and genotypic

- studies in a UK population // *Brain*. 2001. V. 124. № 3. P. 522–526.
25. Bouchard J.-P., Brais B., Brunet D. et al. Recent studies on oculopharyngeal muscular dystrophy in Quebec // *Neuromusc. Disord.* 1997. V. 7. (Suppl. 1). P. 22–29.
 26. Becher M.W., Morrison L., Davis L.E. et al. Oculopharyngeal muscular dystrophy in Hispanic New Mexicans // *JAMA*. 2001. V. 286. № 19. P. 2437–2440.
 27. Shan J., Chen B., Lin P. et al. Oculopharyngeal muscular dystrophy: phenotypic and genotypic studies in a Chinese population // *Neuromolecular Med.* 2014. V. 16. № 4. P. 782–786. DOI: 10.1007/s12017-014-8327-5
 28. Grewal R.P., Karkera J.D., Grewal R.K. et al. Mutation analysis of oculopharyngeal muscular dystrophy in Hispanic American families // *Arch. Neurol.* 1999. V. 56. № 11. P. 1378–1381.
 29. Степанов В.А. Этногеномика населения Северной Евразии. Томск: Печатная мануфактура, 2002. 244 с.
 30. Максимова Н.Р., Николаева И.А., Коротов М.Н. и др. Клинико-генеалогическая и молекулярно-генетическая характеристика окулофарингеальной миодистрофии в Республике Саха (Якутия) // *Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2008. № 6. С. 32–35.
 31. 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.

Haplotype Analysis of Oculopharyngeal Muscular Dystrophy (OPMD) Locus in Yakutia

A. V. Marusin^{a, b}, Kh. A. Kurtanov^c, N. R. Maksimova^d,
M. G. Svarovskaya^a, and V. A. Stepanov^{a, b}

^a Research Institute for Medical Genetics, Russian Academy of Sciences, Tomsk, 634050 Russia
e-mail: andrey.marusin@medgenetics.ru

^b National Research Tomsk State University, Tomsk, 634050 Russia

^c Yakut Scientific Center of Complex Medical Problems,
Russian Academy of Sciences, Yakutsk, 677013 Russia

^d Ammosov North-Eastern Federal University, Yakutsk, 677000 Russia

Oculopharyngeal muscular dystrophy (OPMD) is a hereditary neuromuscular disease with autosomal dominant and rarely with autosomal recessive inheritance types. This study included 50 patients with a clinical diagnosis of OPMD, 23 asymptomatic carriers of the mutation from 45 unrelated families, and 56 healthy relatives, as well as population samples of four ethnic groups of Yakutia: Yakuts, Evens, Evenks, Yukaghirs. It was found that the cause of OPMD development in all investigated families is the same increase in GCN repeats to 14 copies in the *PABPN1* gene. The molecular structure of the (GCN)₁₄ mutant allele is (GCG)₁₀(GCA)₃GCG. The genetic variability of ten SNPs at the OPMD locus was studied in patient families and population samples. The haplotypes of OPMD were determined by a segregation analysis technique using the EM algorithm in the groups of patients, mutation carriers, and population samples. Only one haplotype of four SNPs (ATCG) linked with the (GCN)₁₄ mutant allele was found in Yakuts and Russian patients and OPMD mutation carriers. Probably, this indicates the accumulation of mutations as a result of the founder effect.

Keywords: oculopharyngeal muscular dystrophy, *PABPN1*, haplotype analysis, Yakuts.