

СТРУКТУРНАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ГЕНОМА ЛЕЙКОЦИТОВ И КЛЕТОК АРТЕРИЙ ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ У ЧЕЛОВЕКА

Слепцов А. А.¹, Назаренко М. С.^{1,2,3}, Пузырев В. П.^{1,3}

В обзоре рассмотрены существующие представления о структурной изменчивости генома соматических клеток как компоненты, связанной с атеросклерозом. Приведены результаты собственного исследования о спектре вариаций числа копий участков ДНК в лейкоцитах периферической крови и клетках артерий при их атеросклеротическом поражении у человека. Обозначены перспективы исследования структурной вариативности генома соматических клеток для понимания патогенетики многофакторных заболеваний человека.

Российский кардиологический журнал 2017, 10 (150): 140–146
http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-140-146

Ключевые слова: атеросклероз, CNV, вариации числа копий участков ДНК, микрочипы, биомаркеры, диагностика.

¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск; ²ФГБНУ Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, Томск; ³ФГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Томск, Россия.

Слепцов А. А. — м.н.с. лаборатории популяционной генетики, Назаренко М. С.* — к.м.н., руководитель лаборатории популяционной генетики, Пузырев В. П. — д.м.н., академик РАМН, профессор, научный руководитель, научный руководитель.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
maria.nazarenko@medgenetics.ru

aCGH — англ. array-based Comparative Genomic Hybridization, матричная сравнительная геномная гибридизация, CNV — англ. Copy Number Variation, вариативность числа копий участков ДНК, DGV — англ. Database of Genomic Variants, база данных геномных вариаций человека, HMGR — 3-гидрокси-3-метилглутарил-KoA-редуктаза, iPSCs — англ. induced Pluripotent Stem Cells, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, pFDR — достигнутый уровень значимости статистического теста, скорректированный методом Benjamini-Hochberg, ГМК — гладкомышечные клетки, ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота.

Рукопись получена 21.06.2017
Рецензия получена 09.08.2017
Принята к публикации 04.09.2017

STRUCTURAL VARIABILITY OF LEUCOCYTE GENOME AND ARTERIAL CELLS IN HUMAN ATHEROSCLEROSIS

Sleptsov A. A.¹, Nazarenko M. S.^{1,2,3}, Puzyrev V. P.^{1,3}

The review is focused on current views on the structural variation of genome of somatic cells as components related to atherosclerosis. The original data presented on the variation spectrum of DNA areas copies in peripheral blood leucocytes and arterial cells in human atherosclerosis. The future directions sketched for the research on somatic cells genome variation with the aim for pathogenetics of multifactorial diseases.

Russ J Cardiol 2017, 10 (150): 140–146
http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-10-140-146

Key words: atherosclerosis, CNV, DNA areas copies variation, microchips, biomarkers, diagnostics.

¹SRI of Medical Genetics, Tomsk National Research Center of RAS, Tomsk; ²SRI of Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Tomsk; ³Siberian State Medical University (SSMU), Tomsk, Russia.

Хорошо известно, что патогенез атеросклеротического поражения артерий представляет собой многофакторный и многостадийный процесс, в развитие которого существенный вклад вносит генетическая компонента [1, 2]. Несмотря на активное проведение исследований в области генетики атеросклероза и его клинических осложнений, список генов, изменчивость которых может быть фактором риска развития и прогрессии данных заболеваний, относительно небольшой, а однонуклеотидный полиморфизм объясняет лишь малую долю наследуемости данных заболеваний. Исследования ассоциаций выявляют генетическую детерминированность факторов риска атеросклероза (дислипидемия и артериальная гипертензия) и, следовательно, ранних этапов атерогенеза, но не проясняют всего спектра молекулярных меха-

низмов патологических изменений, происходящих в стенке артерий при развитии сосудистых осложнений [3, 4].

Можно предположить, что одна из причин такого состояния дел в данной области знаний связана с исключительным вниманием к наследуемым полиморфным генетическим вариантам. В то же время, вне фокуса внимания исследователей находятся изменения нуклеотидной последовательности ДНК, возникающие в соматических клетках в ходе онтогенеза или, по крайней мере, на этапах, предшествующих развитию заболевания. Недавние работы показывают, что приобретенные человеком в течение жизни (постзиготические) и ненаследуемые изменения генома соматических клеток представляют собой недооцененный источник вариативности в развитии

и прогрессии различных заболеваний, в том числе, многофакторной природы [5-8]. Не исключено, что генетическая вариабельность клеток артерий может модифицировать развитие и течение их атеросклеротического поражения у индивидов, предрасположенных к данному заболеванию [2].

Теоретические предпосылки существования соматической вариабельности генома в клетках сосудов

В рамках разрабатываемых теорий мутационной изменчивости соматических клеток особое внимание уделяется особой форме неменделевского наследования — “парадоминантному наследованию” [9-11]. Сущность парадоминантного наследования заключается в комбинации унаследованных генетических изменений с возникшими *de novo* соматическими мутациями в том же локусе (рис. 1). Гетерозиготные по парадоминантной мутации индивидуумы имеют нормальный фенотип и передают мутантный аллель через поколения без проявления, а гомозиготы являются летальными. Патологический признак (фенотип, болезнь) проявляется только в том в случае, если соматическая мутация возникает на очень ранних стадиях эмбриогенеза, что приводит к потере гетерозиготности и формированию гомозиготных или гемизиготных популяций клеток. В результате эмбрион становится мозаичным. Такие мозаичные генотипы могут обнаруживаться у нескольких членов одной родословной, формируясь у каждого из родственников независимо в ходе онтогенеза, но на общей генетической основе. Это симулирует аутосомно-доминантный тип наследования, что и отражено в названии механизма “парадоминантность”. Парадоминантное наследование напоминает, но не соответствует двухударной модели Кнудсена, согласно которой, вторая мутация происходит в любой момент в постнатальном онтогенезе [2].

Первоначально предполагалось, что концепция парадоминантного наследования может выступать в качестве объяснения этиологии ряда наследственных синдромов, проявляющихся патологией кожных покровов — синдром МакКьюна-Олбрайта, пигментные невусы Беккера [9, 10]. Однако последующие исследования показали, что данный феномен наблюдался и при локальных структурных нарушениях, которые возникают в ходе васкулогенеза [12]. Например, в клетках вен при их мультифокальных аномалиях на коже и слизистых у одного и того же человека идентифицированы как унаследованные, так и мутации *de novo* в гене эндотелиальной тирозиновой киназы (*TEK*) [12]. Мутации *de novo* выявлены также в тканях сосудов у больных при аневризме абдоминальной части аорты [13] и легочной артериальной гипертензии [14]. Данные примеры подчеркивают важность анализа вариабельности нуклеотидной последовательности ДНК не только в лейкоцитах периферической крови

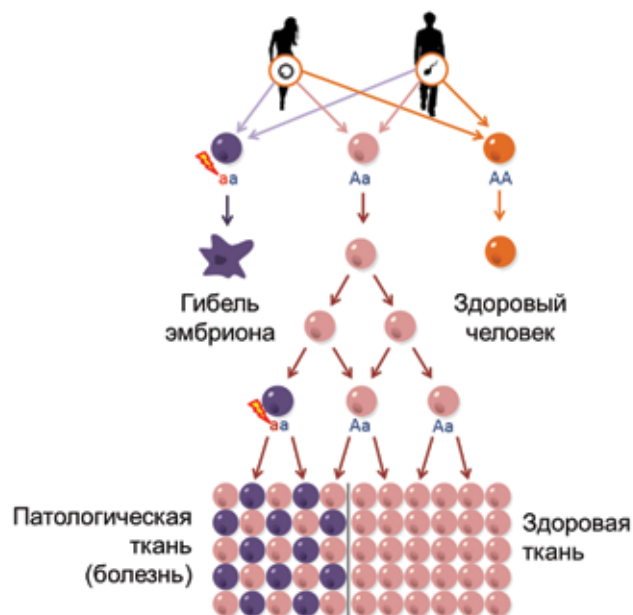


Рис. 1. Схематичное представление гипотезы “парадоминантного наследования”. Аллель “А” — норма; аллель “а” — мутация [цитируется по 2].

индивидов, но и в других клетках, особенно, в органах-мишенях заболеваний.

Сосуществование мажорных и минорных генетических вариантов, как в нормальных, так и в пораженных заболеванием тканях, позволило сформулировать гипотезу о предсуществующей внутритканевой генетической гетерогенности как высоко-специализированной форме соматического мозаицизма [15, 16]. Предполагается, что во время раннего эмбрионального развития существует краткий период времени, когда в определенных тканях временно инактивированы механизмы репарации ДНК, что приводит к аккумуляции нескольких генетических вариантов. Мутации не являются результатом процесса *de novo*, а предсуществуют, хотя и в очень небольшом количестве клеток определенной ткани. Основное отличие данной гипотезы от “парадоминантного наследования” заключается в том, что отбор мутаций будет являться более критичным событием в патогенезе заболевания, чем собственно спонтанный мутагенез.

Экспериментальные работы по изучению вариабельности генома при атеросклерозе

События, которые инициируют атерогенез в артериях, активно обсуждаются на протяжении нескольких десятилетий. Открытие моноклональности гладкомышечных клеток (ГМК) в стенке артерий послужило причиной рассмотрения формирования атеросклеротических бляшек с позиций неопластического процесса. В этом случае, мутация в одной из ГМК приводит к ее трансформации в клетку-предшественника пролиферативного клона [17]. В пользу соматической мутационной концепции атерогенеза

свидетельствует большое количество экспериментальных исследований [17-19]. Повреждение ДНК, характерное для клеток атеросклеротических бляшек на ранних стадиях заболевания, возрастает с увеличением степени тяжести патологии и почти универсально обнаруживается в клетках на поздних стадиях атеросклероза [20].

Одной из первых соматических мутаций, обнаруженных в ГМК атеросклеротических бляшек коронарных и сонных артерий человека, является мутация в полиадениновом тракте гена рецептора трансформирующего ростового фактора β , II типа (*TGFBR2*) [21]. В связи с тем, что данная мутация выявлена в единичных первичных и рестенозирующих атеросклеротических бляшках артерий, полагают, что она не принимает участие в патогенезе заболевания [22, 23]. Мутации в гене *TGFBR2* часто выявляются при микросателлитной нестабильности в опухолевых клетках. Неудивительно, что в ГМК артерий, пораженных атеросклерозом, по сравнению с интактными сосудами, также описаны феномены микросателлитной нестабильности и потери гетерозиготности по целому ряду локусов [24-28].

Потеря гетерозиготности выявлена в генах mismatch-репарации ДНК в атеросклеротических бляшках аорты, что может приводить к нарушению репарации и прогрессирующему накоплению мутаций в геноме клеток [25]. В другой работе показано, что потеря гетерозиготности является частым событием в клетках сонных артерий, и она обнаружена в динуклеотидном повторе гена *NOS3* [27]. Фермент *NOS3* участвует в образовании оксида азота, который обладает сосудорасширяющим эффектом, и задействован в патогенезе атеросклероза, ингибируя пролиферацию ГМК, адгезию лейкоцитов, агрегацию тромбоцитов.

Кроме того, в макрофагах и ГМК атеросклеротических бляшек зарегистрированы другие варианты повреждений ДНК в виде разрывов, модификаций оснований (окисление) и ДНК-аддуктов [18, 21]. В данных клетках обнаружены маркеры повреждения ДНК и активации системы репарации, и фосфорилированные формы белков ATM и γ H2AX, которые связаны с тяжестью атеросклероза.

С другой стороны, имеются свидетельства о "макроповреждениях" ДНК, которые представлены числовыми и структурными перестройками хромосом в ГМК артерий с атеросклеротическими изменениями, полученные в результате использования методов классической цитогенетики и флуоресцентной *in situ* гибридизации. Наиболее частые перестройки включают моносомию по Y- и трисомию по 7 хромосомам. Трисомия по 7 хромосоме связана с увеличением экспрессии генов *PDGFA*, *MET* и *EGFR*, локализованных на данной хромосоме. Белковые продукты данных генов могут стимулировать пролиферацию ГМК, что

косвенно подтверждает моноклональную гипотезу атерогенеза. Хромосомные аномалии в ГМК обнаруживались только в нестабильных атеросклеротических бляшках сонных артерий [29, 30]. Кроме ГМК, высокий уровень анеуплоидии выявлен в мультиноклеарных эндотелиальных клетках аорты из области атеросклеротических бляшек. Причем, данные клетки отличались повышенным уровнем поглощения холестерина ЛПНП и, в последующем, его скоплением в субэндотелиальном слое интимы [31].

Таким образом, повреждение ДНК, выявленное в макрофагах, эндотелиальных и гладкомышечных клетках артерий, тесно связано с патогенезом атеросклероза. При атеросклеротическом поражении артерий повреждение ДНК происходит в клетках при репликации, а также под влиянием окислительного стресса и различных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний (курение, дислипидемия, артериальная гипертензия, сахарный диабет 2 типа, ожирение, хронические инфекции, гипергомоцистеинемия, лекарственная терапия и др.). Уменьшение уровня антиоксидантов и снижение эффективности репарации ДНК, которое увеличивается с возрастом, также вносит вклад в повреждение ДНК при атерогенезе. В результате, клетки замедляют или останавливают процесс деления и в них активируется система репарации ДНК. В том случае, если повреждение ДНК нельзя исправить, клетки подвергаются преждевременному старению, которое проявляется укорочением теломера, и апоптозу.

Функциональные последствия повреждения ДНК в клетках артерий при атеросклерозе изучены не в полной мере. Полагают, что уменьшение пролиферации и преждевременное старение ГМК может ингибировать рост атеросклеротических бляшек, в то же время, секреция провоспалительных цитокинов при старении клеток способствует развитию атеросклероза. Апоптоз ГМК увеличивает атерогенез, прогрессию и нестабильность атеросклеротических бляшек [32]. Следует отметить, что кроме клеток артерий маркеры повреждения и репарации ДНК идентифицированы в лейкоцитах периферической крови больных атеросклерозом и они коррелируют с факторами риска и степенью тяжести атеросклероза, а также развитием острых сосудистых событий [33, 34].

На данный момент времени, ни одна из выявленных генетических аномалий в клетках атеросклеротически измененных артерий не была специфичной, а также достаточно частой и подтвержденной в нескольких работах, чтобы предположить патогенетический механизм или потенциальный маркер заболевания. Отчасти это связано с тем, что методические подходы, которые использовались при изучении повреждений ДНК в клетках атеросклеротических бляшек, обладали рядом ограничений. В частности, стандартный цитогенетический анализ выполнен

с использованием культивирования клеток, что может приводить к ошибочным результатам за счет селективного роста отдельных клонов клеток в культуре. Оценка хромосомных aberrаций в клетках сосудов проводилась с помощью анализа на препаратах метафазных хромосом с низким разрешением [29].

В последнее время широкое распространение получил метод сравнительной геномной гибридизации, основанный на использовании высокоразрешающих микрочиповых технологий array-CGH (англ. array Comparative Genomic Hybridisation). Данная технология одномоментно в образце выявляет такие микроструктурные хромосомные перестройки, как делеции, амплификации и вариации числа копий участков ДНК или CNV (англ. copy number variation). Кроме того, array-CGH позволяет избежать этапа культивирования клеток. В результате использования данного метода показано, что у здоровых индивидов с возрастом увеличивается доля лейкоцитов периферической крови, содержащих CNV [5, 35]. Кроме того, в клетках различных тканей и органов идентифицировано большое количество CNV, затрагивающих гены, белковые продукты которых вовлечены в регуляцию различных процессов [36].

Работы, описывающие вклад CNV в риск развития атеросклероза и его осложнений, немногочисленны и противоречивы [37–41]. В данных исследованиях проводилось тестирование только одной ткани — лейкоцитов периферической крови. Тем самым, не была учтена вариабельность генома клеток артерий, которая может вносить вклад в формирование локальной предрасположенности к атеросклеротическому процессу. Не исключено, что накопленный груз и спектр мутаций может различаться в лейкоцитах и клетках артерий, внося вклад в подверженность и особенности течения атеросклероза и его клинических проявлений. В связи с этим, мы предположили, что методика матричной сравнительной геномной гибридизации может оказаться ценной в доказательстве участия мутаций соматических клеток при формировании атеросклеротической бляшки через сравнительный анализ гибридизационных профилей ДНК из клеток артерий, пораженных атеросклерозом, а также лейкоцитов периферической крови у тех же самых индивидов. При этом изменения, выявленные во всех обследованных тканях, с высокой степенью вероятности имеют герминативное происхождение, тогда как варианты, идентифицированные только в одной из тканей, особенно пораженной патологическим процессом, могут быть расценены как соматические.

Характеристика спектра вариаций числа копий участков ДНК в лейкоцитах периферической крови и клетках артерий при их атеросклеротическом поражении

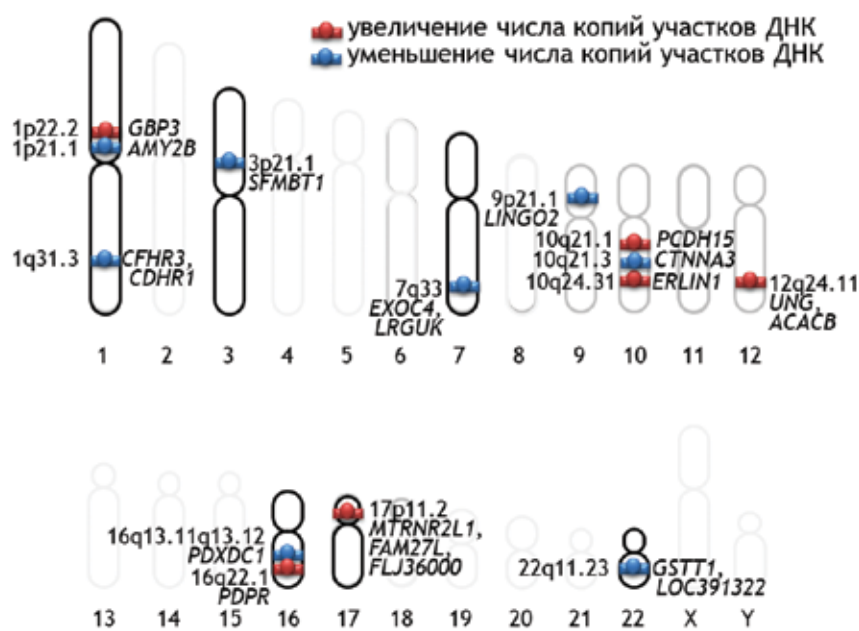
Для исследования использованы образцы ДНК, выделенные из правых коронарных артерий с атеро-

склеротическими бляшками и лейкоцитов периферической крови. Образцы тканей получены от десяти одних и тех же больных с ишемической болезнью сердца. Матричная сравнительная геномная гибридизация выполнена с помощью микрочипов SurePrint G3 Human CGH+SNP Microarray 2x400 K (Agilent Technologies, США). Подробное описание условий эксперимента приведено в опубликованной ранее статье [42].

Всего в анализируемых тканях идентифицировано 90 вариаций числа копий участков ДНК. Все выявленные CNV, кроме одной в хромосомном регионе 10q24.31 (*ERLIN1*), реферируются в базе данных геномных вариаций человека — DGV (Database of Genomic Variants) и, скорее всего, представляют собой полиморфизмы. При сравнении образцов атеросклеротически измененных правых коронарных артерий и лейкоцитов периферической крови, взятых у одного и того же индивида, специфических для какой-либо ткани изменений числа копий участков ДНК не выявлено. Не исключено, что соматические структурные вариации генома могли быть пропущены из-за малого объема выборок, существующих ограничений дизайна микрочипов, а также использованных строгих критериев при биоинформационном анализе данных.

Семьдесят две CNV содержат гены. При функциональной аннотации данных генов, согласно базам данных KEGG и Gene Ontology, наиболее представленными оказались категории, связанные с иммунновоспалительным ответом (семейство генов *DEFB*, *APOBEC* pFDR <0,05), функционированием обонятельных рецепторов и передачей сигналов (*OR2*, *OR4* и *OR11*, pFDR <0,05). Кроме того, белковые продукты генов, подверженных вариациям числа копий участков ДНК, вовлечены в метаболизм различных веществ (*AMY2B*, *CELA2A*, *CELA2B*, *UGT2B17*, *UGT2B28*, *GSTT1*, pFDR <0,05). Это согласуется с другими работами, что наиболее часто CNV выявляются в регионах генома, содержащих гены, продукты которых отвечают за взаимодействие с факторами внешней среды [43].

Четырнадцать хромосомных регионов содержали CNV, в которых локализовались гены, ранее ассоциированные с атеросклеротическим поражением артерий или его факторами риска (рис. 2). Размер данных CNV варьировал от 4,4 кб до 418,3 кб. Лишь 5 из 14 CNV выявлены у более чем одного больного, остальные 9 CNV зарегистрированы в единичных случаях. Уменьшение числа копий участков ДНК выявлено в восьми хромосомных регионах: 1p21.1 (*AMY2B*), 1q31.3 (*CFHR3*, *CDHR1*), 3p21.1 (*SFMBT1*), 7q33 (*LRGUK*), 9p21.1 (*LINGO2*), 10q21.3 (*CTNNA3*), 16q13.11-q13.12 (*PDXDC1*), 22q11.23 (*GSTT1*, *LOC391322*), а увеличение числа копий участков ДНК — в шести регионах: 1p22.2 (*GBP3*), 10q21.1



Ассоциация однонуклеотидного полиморфизма генов с атеросклеротическим поражением артерий или его факторами риска в ранее проведенных исследованиях:

- кальцификация коронарных артерий и утолщение комплекса интима-медия сонных артерий - *GBP3*, *PCDH15*;
- ишемическая болезнь сердца - *GSTT1*, *PDPR*;
- гипертензия - *CFHR3*, *CFHR1*, *SFMBT1*, *GSTT1*;
- индекс массы тела - *LINGO2*;
- неалкогольная болезнь печени - *ERLIN1*;
- сахарный диабет 2 типа - *AMY2B*;
- метаболический синдром - *EXOC4*, *LRGUK*, *ACACB*, *PDXDC1*, *MTRNR2L1*;
- аритмогенная кардиомиопатия правого желудочка - *CTNNA3*.

Рис. 2. Связь генов, картированных в области вариаций числа копий участков ДНК (CNV) в клетках артерий и лейкоцитах, с атеросклерозом или его факторами риска.

(*PCDH15*), 10q24.31 (*ERLIN1*), 12q24.11 (*UNG*, *ACACB*), 16q22.1 (*PDPR*), 17p11.2 (*MTRNR2L1*, *FAM27L*, *FLJ36000*).

У одного больного во всех анализируемых тканях выявлено увеличение числа копий участков ДНК, в хромосомном регионе 10q24.31, размером 33 кб. Данная aberrация не представлена в базе данных DGV и содержит ген — *ERLIN1* (endoplasmic reticulum lipid raft associated 1). Однонуклеотидный полиморфизм в области гена *ERLIN1* показал ассоциацию с неалкогольной жировой болезнью печени и ее маркером — уровнем аланин-аминотрансферазы в плазме крови, а также с геморрагическим инсультом [44, 45]. Механизм связи полиморфизма в данном гене с патологией неизвестен. Белковый продукт гена *ERLIN1* является холестерол-связывающим белком, который взаимодействует с комплексом SREBP—Scap—Insig и ингибирует продукцию холестерина при условии его достаточного содержания в клетке [46, 47]. Кроме того, данный белок входит в состав липидных рафтов эндоплазматического ретикула, которые представляют собой микродомены плазматической мембраны, обогащенные сфинголипидами и холестерином. Они служат платформой для передачи различных сигналов, в том числе, иммунновоспалительного ответа — важного звена в патогенезе атеросклероза. Белок *ERLIN1* взаимодействует с *ERLIN2*, формируя функциональный комплекс, который способствует ER-

ассоциированной деградации белков, в том числе мишени для статинов — 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА-редуктазы (HMGCR) [47]. Учитывая эти данные, не исключено, что изменение числа копий участков ДНК может быть связано с риском атеросклеротического поражения артерий либо непосредственно, модулируя функциональную активность гена в клетках артерий и вызывая нарушение гомеостаза липидов, либо опосредованно, влияя на предрасположенность к его фактору риска — неалкогольной жировой болезни печени. Кроме того, поскольку *ERLIN1* способствует деградации HMGCR, увеличение копиюности в хромосомном субсегменте 10q24.31 (*ERLIN1*), может быть связано с измененным ответом пациентов на лечение статинами.

Мы провели подтверждающее исследование CNV в хромосомном регионе 10q24.31 (*ERLIN1*) в образцах ДНК из правых коронарных артерий с атеросклеротическими бляшками и лейкоцитов периферической крови с помощью количественной ПЦР в режиме реального времени с применением TaqMan проб [48]. В хромосомном субсегменте 10q24.31 (*ERLIN1*) в образцах ДНК лейкоцитов периферической крови у 3-х из 315 больных атеросклерозом, что составило 1%, обнаружено увеличение числа копий участка ДНК. В то время как в образцах ДНК лейкоцитов крови индивидов контрольной группы, напротив, установлено уменьшение числа копий в анализируе-

мом хромосомном субсегменте у 3 (1%) индивидов. У одного больного увеличение числа копий участков ДНК в хромосомном субсегменте 10q24.31 (*ERLIN1*) выявлялось во всех исследуемых образцах ДНК тканей артерий и лейкоцитов крови, в то же самое время у двух больных увеличение копиюности данного участка ДНК наблюдалось лишь в образцах ДНК лейкоцитов крови. Таким образом, уровень детекции увеличения числа копий участка ДНК в хромосомном регионе 10q24.31 (*ERLIN1*) различался для парных образцов тканей (лейкоциты и артерии). Возможно, что у некоторых больных атеросклерозом в лейкоцитах данные CNV унаследованы, а у других увеличение копиюности анализируемых участков ДНК произошло в результате постзиготических событий.

Заключение

Работы, связанные с исследованием структурной вариабельности генома соматических клеток, важны не только для понимания патогенеза многофакторных заболеваний, но и для использования полученных знаний при создании линий индуцированных плюрипотентных стволовых клеток — iPSCs (induced Pluripotent Stem Cells). Данные клетки могут быть дифференцированы в различные типы клеток и даже в отдельные органы. В настоящее время iPSCs применяются для моделирования заболеваний, а также их лечения в регенеративной медицине, а в перспективе и в прецизионной медицине [49].

В большинстве случаев, iPSCs, полученные из клеток конкретного больного, уже содержат повреждения ДНК, в том числе и в виде CNV. Исследования iPSCs будут информативны для установления причинной связи CNV с заболеванием и ее механизмов, в том случае, если функциональная значимость генетического варианта не была установлена ранее при обследовании

больного. Обширная область использования iPSCs касается лечения заболеваний. Данные клетки, содержащие CNV, могут быть использованы в качестве суррогатного материала для поиска терапевтических мишеней и оценки влияния лекарств на клетки конкретного индивида. Кроме того, если повреждение ДНК уже существует в соматических клетках и связано с патологией, то в процессе репрограммирования соматических клеток можно исправить данный дефект и получить iPSCs без изменения числа копий участков ДНК. С другой стороны, при репрограммировании соматических клеток можно индуцировать CNV, которые будут обеспечивать клетку протективными свойствами в отношении заболевания.

В то же время, данный подход, как и любые другие технологии, имеет ограничения. При репрограммировании соматических клеток в них происходит аккумуляция хромосомных aberrаций, что приводит к гетерогенности iPSCs. С другой стороны, поскольку CNV часто содержат гены супрессоры опухоли и онкогены, при проведении iPSCs терапии может увеличиваться риск развития злокачественных новообразований. Таким образом, исследование структурных генетических вариаций соматических клеток имеет различные области использования в биологии и медицине, что делает данный раздел науки особенно важным для будущих исследований.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда “Проведение фундаментальных научных исследований и поисковых научных исследований отдельными научными группами” по теме “Постзиготическая вариабельность ядерного и митохондриального геномов при атеросклеротическом поражении сосудов человека” (соглашение № 14-15-00305).

Литература

- Dzizinskiy AA, Puzyrev VP. Heredity and atherosclerosis. Nauka. Novosibirsk: 1977 p. 176. (In Russ.) Дзизинский АА, Пузырев ВП. Наследственность и атеросклероз. Наука. Новосибирск: 1977. с. 176.
- Puzyrev VP, Nazarenko MS, Lebedev IN, et al. Phenomenon of paradominant inheritance in atherosclerosis. Meditsinskaya Genetika. 2014; 10: 41-8. (In Russ.) Пузырев ВП, Назаренко МС, Лебедев ИН, и др. Феномен парадоминантного наследования при атеросклерозе. Медицинская Генетика 2014, 10: 41-8.
- Björkegren JLM, Kovacic JC, Dudley JT, et al. Genome-Wide Significant Loci: How Important Are They? J Am Coll Cardiol 2015; 65: 830-45.
- Khera AV, Kathiresan S. Genetics of coronary artery disease: discovery, biology and clinical translation. Nat Rev Genet 2017, 18: 331-44.
- Jacobs KB, Yeager M, Zhou W, et al. Detectable clonal mosaicism and its relationship to aging and cancer. Nat Genet 2012; 44: 651-8.
- Laurie CC, Laurie CA, Rice K, et al. Detectable clonal mosaicism from birth to old age and its relationship to cancer. Nat Genet 2012; 44: 642-50.
- Forsberg LA, Absher D, Dumanski JP. Non-heritable genetics of human disease: spotlight on post-zygotic genetic variation acquired during lifetime. J Med Genet 2013; 50: 1-10.
- Forsberg LA, Gisselsson D, Dumanski JP. Mosaicism in health and disease - clones picking up speed. Nat Rev Genet 2016; 18: 128-42.
- Happle R. The McCune-Albright syndrome: a lethal gene surviving by mosaicism. Clin Genet 1986; 29: 321-4.
- Happle R. Paradominant inheritance: A possible explanation for Becker's pigmented hairy nevus. Eur J Dermatol 1991; 39-40.
- Happle R. What is paradominant inheritance? J Med Genet 2009; 46: 648.
- Limaye N, Boon LM, Vikkula M. From germline towards somatic mutations in the pathophysiology of vascular anomalies. Hum Mol Genet 2009; 18: R65-R74.
- Gottlieb B, Chalifour LE, Mitmaker B, et al. BAK1 gene variation and abdominal aortic aneurysms. Hum Mutat 2009; 30: 1043-7.
- Fessel JP, Loyd JE, Austin ED E. The Genetics of Pulmonary Arterial Hypertension. Circ Res 2014; 115: 189-202.
- Gottlieb B, Beitel LK, Alvarado C, et al. Selection and mutation in the “new” genetics: An emerging hypothesis. Hum Genet 2010; 127: 491-501.
- Gottlieb B, Beitel LK, Trifiro M. Changing genetic paradigms: creating next-generation genetic databases as tools to understand the emerging complexities of genotype/phenotype relationships. Hum Genomics 2014; 8: 9.
- Benditt EP, Benditt JM. Evidence for a monoclonal origin of human atherosclerotic plaques. Proc Natl Acad Sci U S A 1973; 70: 1753-6.
- De Flora S, Izzotti A. Mutagenesis and cardiovascular diseases. Molecular mechanisms, risk factors, and protective factors. Mutat Res - Fundam Mol Mech Mutagen 2007; 621: 5-17.
- Weakley SM, Jiang J, Kougiass P, et al. Role of somatic mutations in vascular disease formation. Expert Rev Mol Diagn 2010; 10: 173-85.
- Uryga A, Gray K, Bennett M. DNA Damage and Repair in Vascular Disease. Annu Rev Physiol 2016; 78: 45-66.
- McCaffrey TA, Du B, Consigli S, et al. Genomic instability in the type II TGF-beta1 receptor gene in atherosclerotic and restenotic vascular cells. J Clin Invest 1997; 100: 2182-8.

22. Bobik A, Agrotis A, Kanellakis P, et al. Distinct patterns of transforming growth factor-beta isoform and receptor expression in human atherosclerotic lesions. Colocalization implicates TGF-beta in fibrofatty lesion development. *Circulation* 1999; 99: 2883-91.
23. Clark KJ, Cary NR, Grace AA, et al. Microsatellite mutation of type II transforming growth factor-beta receptor is rare in atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 555-9.
24. Hatzistamou J, Kiaris H, Ergazaki M, et al. Loss of heterozygosity and microsatellite instability in human atherosclerotic plaques. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 225: 186-90.
25. Flouris GA, Arvanitis DA, Parissis JT, et al. Loss of heterozygosity in DNA mismatch repair genes in human atherosclerotic plaques. *MolCell BiolResCommun* 2000; 4: 62-5.
26. Miniati P, Sourvinos G, Michalodimitrakis M, et al. Loss of heterozygosity on chromosomes 1, 2, 8, 9 and 17 in cerebral atherosclerotic plaques. *Int J Biol Markers* 2001; 16: 167-71.
27. Grati FR, Ghilardi G, Sirchia SM, et al. Loss of heterozygosity of the NOS3 dinucleotide repeat marker in atherosclerotic plaques of human carotid arteries. *Atherosclerosis* 2001; 159: 261-7.
28. Arvanitis DA, Flouris GA, Spandidos DA. Genomic rearrangements on VCAM1, SELE, APEG1 and AIF1 loci in atherosclerosis. *J Cell Mol Med* 2005; 9: 153-9.
29. Casalone R, Granata P, Minelli E, et al. Cytogenetic analysis reveals clonal proliferation of smooth muscle cells in atherosclerotic plaques. *Hum Genet* 1991; 87: 139-43.
30. Maturri L, Cazzullo A, Turconi P, et al. Chromosomal alterations in atherosclerotic plaques. *Atherosclerosis* 2001; 154: 755-61.
31. Tokunaga O, Satoh T, Yu S. Multinucleated variant endothelial cells (MVECs) have a greater capacity for LDL cholesterol uptake than typical mononuclear endothelial cells (TECs). *J Atheroscler Thromb* 2002; 9: 35-41.
32. Gray K, Kumar S, Figg N, et al. Effects of DNA damage in smooth muscle cells in atherosclerosis. *Circ Res* 2015; 116: 816-26.
33. Andreassi MG. DNA damage, vascular senescence and atherosclerosis. *J Mol Med* 2008; 86: 1033-43.
34. Gray K, Bennett M. Role of DNA damage in atherosclerosis - Bystander or participant? *Biochem Pharmacol* 2011; 82: 693-700.
35. Laurie CCA, Laurie CCA, Rice K, et al. Detectable clonal mosaicism from birth to old age and its relationship to cancer. *Nat Genet* 2012; 44: 642-50.
36. O'Huallachain M, Karczewski KJ, Weissman SM, et al. Extensive genetic variation in somatic human tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109: 18018-23.
37. Pollex RL, Hegele RA. Copy Number Variation in the Human Genome and Its Implications for Cardiovascular Disease. *Circulation* 2007; 115: 3130-8.
38. Kathiresan S. Lp(a) Lipoprotein Redux — From Curious Molecule to Causal Risk Factor. *N Engl J Med* 2009; 361: 2573-4.
39. The Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of CNVs in 16,000 cases of eight common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 2010; 464: 713-20.
40. Gancheva K, Postadjan A, Brazma D, et al. Copy Number Variants: Distribution in Patients with Coronary Atherosclerosis. *Biotechnol Bioinform Equip* 2009; 23: 1095-100.
41. Shia W-C, Ku T-H, Tsao Y-M, et al. Genetic copy number variants in myocardial infarction patients with hyperlipidemia. *BMC Genomics* 2011; 12: S23.
42. Nazarenko MS, Sleptcov AA, Lebedev IN, et al. Genomic structural variations for cardiovascular and metabolic comorbidity. *Sci Rep* 2017; 7: 41268.
43. Ionita-Laza I, Rogers AJ, Lange C, et al. Genetic association analysis of copy-number variation (CNV) in human disease pathogenesis. *Genomics* 2009; 93: 22-6.
44. Feitosa MF, Wojczynski MK, North KE, et al. The *ERLIN1-CHUK-CWF19L1* gene cluster influences liver fat deposition and hepatic inflammation in the NHLBI Family Heart Study. *Atherosclerosis* 2013; 228: 175-80.
45. Yoshida T, Kato K, Yokoi K, et al. Association of genetic variants with hemorrhagic stroke in Japanese individuals. *Int J Mol Med* 2010; 25: 649-56.
46. Browman DT, Resek ME, Zajchowski LD, et al. Erlin-1 and erlin-2 are novel members of the prohibitin family of proteins that define lipid-raft-like domains of the ER. *J Cell Sci* 2006; 119: 3149-60.
47. Huber MD, Vesely PW, Datta K, et al. Erlins restrict SREBP activation in the ER and regulate cellular cholesterol homeostasis. *J Cell Biol* 2013; 203: 427-36.
48. Sleptsov AA, Nazarenko MS, Barbarash OL, et al. The variety of *ERLIN1* gen copies in patients with ischemic heart disease. *Medical Genetics*, 2016; 15: 42-4. (In Russ.) Слепцов АА, Назаренко МС, Барбараш ОЛ, et al. Вариации числа копий гена *ERLIN1* у больных с ишемической болезнью сердца. *Медицинская Генетика* 2016; 15: 42-4.
49. Warren CR, Jaquish CE, Cowan CA. The NextGen Genetic Association Studies Consortium: A Foray into *In Vitro* Population Genetics. *Cell Stem Cell* 2017; 20: 431-3.