

## ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ КАК ИНСТРУМЕНТ ИЗУЧЕНИЯ ПАТОГЕНЕЗА ХРОМОСОМНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

© 2020 г. М. Е. Лопаткина<sup>1</sup>, \*, И. Н. Лебедев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, 634050 Россия

\*e-mail: maria.lopatkina@medgenetics.ru

Поступила в редакцию 06.05.2019 г.

После доработки 13.06.2019 г.

Принята к публикации 18.06.2019 г.

Рассматриваются особенности транскрипционных профилей клеток с хромосомным дисбалансом. Описаны сложности, возникающие при оценке фенотипических проявлений хромосомных и геномных мутаций. Приводятся данные об использовании полнотранскриптомного анализа в качестве нового инструмента изучения патогенеза хромосомных заболеваний, обусловленных числовыми нарушениями хромосом, а также микроделеционных и микродупликационных синдромов. Обозначены общие закономерности изменения генной экспрессии в клетках пациентов с хромосомными болезнями: глобальная дисрегуляция экспрессии генов по всему геному; схожесть паттерна транскрипционных нарушений как при различных анеуплоидиях, так и при реципрокных микроструктурных абберациях хромосом; общность затронутых геномными мутациями биологических путей и процессов; аккумулярование транскрипционных изменений в процессе развития организма с хромосомной абберацией.

**Ключевые слова:** хромосомные болезни, анеуплоидии, вариации числа копий участков ДНК, синдромы микроделений и микродупликаций, транскриптомный анализ, дифференциальная экспрессия генов.

**DOI:** 10.31857/S0016675820050094

Хромосомные болезни занимают одно из ведущих мест в структуре врожденной и наследственной заболеваемости человека. Так, в ряде случаев генетическими причинами обусловлены такие события, как ранние доимплантационные и спонтанные выкидыши (~50 и ~30% соответственно), младенческая и детская смертность (5–7%), привычное невынашивание беременности (2–5%), мужское бесплодие (2%), нарушение полового развития (25–27%) и др. [1]. У многих пациентов с хромосомными болезнями диагностируют задержку интеллектуального развития, расстройства аутистического спектра, эпилепсию, врожденные пороки развития, обменные нарушения и др., что влечет за собой серьезные социальные и экономические трудности [2].

Этиологическим фактором развития хромосомных болезней являются все виды хромосомных, а также некоторые геномные мутации. Несмотря на широкое разнообразие числовых и, в особенности, структурных перестроек, приводящих к развитию данных патологических состояний, отмечена некоторая общность проявлений хромосомного дисбаланса у человека. Клинические признаки пациентов, обусловленные как анеуплоидиями по целой хромосоме или ее участ-

ку, так и микроструктурными абберациями, затрагивающими один или несколько генов, нередко достаточно близко перекрываются. Так, для многих пациентов с выявленными мутациями характерны задержка психомотормного, интеллектуального, речевого развития, лицевые дисморфии, множественные врожденные пороки развития, аномалии развития сердечно-сосудистой системы, аномалии конечностей и скелета и др. Ответ на вопрос о причине сходства фенотипических проявлений хромосомного дисбаланса может быть найден в процессе изучения молекулярных механизмов патогенеза хромосомных болезней. Удобным инструментом для исследования процессов, происходящих в клетке с хромосомной или геномной мутацией, становится полнотранскриптомный анализ. Транскриптом можно рассматривать как промежуточный молекулярный фенотип между генотипом и фенотипом пациента на уровне организма. Транскрипционные профили клеток с хромосомным дисбалансом отражают активность определенных процессов, происходящих в них на момент анализа. Изменение экспрессии ряда генов, как в сторону увеличения, так и снижения количества транскрипта, может

отразиться на слаженной работе сети взаимодействующих белковых молекул, что в конечном итоге приведет к нарушению протекания целого ряда важных биологических процессов.

Данный обзор направлен на анализ общих закономерностей изменения генной экспрессии, выявленных при полнотранскриптомном изучении клеток пациентов с различными типами хромосомных и геномных мутаций.

### ИСТОРИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИЗУЧЕНИЯ ПАТОГЕНЕЗА ХРОМОСОМНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

История изучения хромосомных болезней, обусловленных нарушением числа или структуры хромосом, на сегодняшний день насчитывает уже не одно столетие. Примечательно, что специфический фенотип пациентов и патогенез данных состояний интересовали ученых задолго до обнаружения факта наличия хромосомных мутаций у человека. Упоминания о возможных носителях хромосомных аномалий приходят из далекого прошлого, при этом для получения ценной клинической информации о пациентах врачам и ученым нередко приходится выходить за рамки научных статей. Так, многим врачам-генетикам покажется знакомой внешность ребенка, изображенного на картине Джованни Франческо Карото “Портрет мальчика с рисунком куклы” (1515 г.), поразительно похожего на пациентов с синдромом Ангельмана, и девочки с признаками синдрома Прадера–Вилли, нарисованной Хуаном Карреньо де Миранда в 1680 г. [3, 4]. А в романе Чарльза Диккенса “Барнаби Радж” (1841 г.) ученые, вероятно, смогут найти первое описание пациента с синдромом Вильямса–Бойрена [5].

Клинические признаки синдрома, характеризующегося круглым и плоским лицом, широкой переносицей, эпикантом, узкими глазными щелями, полными губами, маленьким ртом и макроглоссией, впервые были упомянуты в трудах Жана Этьена Доминика Эскироля и Эдуарда Сегена в 1838 и 1844 г. соответственно, а позднее детально описаны Джоном Лэнгдоном Дауном в 1866 г. [6–8]. Этиология данного синдрома оставалась неясной вплоть до 1959 г., когда французский генетик Жером Лежен сделал предположение о том, что “единственным объяснением может быть наличие у пациентов хромосомного нарушения, затрагивающего большее число генов”. Исследования культур клеток, полученных от детей с синдромом Дауна, позволили ему доказать наличие у данных пациентов хромосомной аномалии – в их клетках была обнаружена дополнительная хромосома 21, состояние, названное позже трисомией (OMIM 190685) [9, 10].

Дальнейшие клинические и цитогенетические исследования пациентов с врожденными порока-

ми развития, лицевыми дисморфизмами, аномалиями скелета и конечностей, задержкой физического, психомоторного и интеллектуального развития привели к обнаружению новых случаев хромосомной патологии. Так, вскоре после описания пациентов с трисомией 21 появились сообщения о рождении детей с нарушениями числа половых хромосом, в частности с кариотипами 45,X; 47,XXY и 47,XXX [11–13]. В 1960 г. в журнале *Lancet* была опубликована статья с клиническим описанием девочки с врожденными аномалиями развития (задержкой физического и психомоторного развития, анофтальмией, расщелиной губы и нёба, полидактилией, задержкой оксификации, аномалиями развития ушных раковин, шумами в сердце, капиллярными гемангиомами, эпилептиформными приступами) и дополнительной хромосомой 13 [14]. В том же номере журнала была опубликована статья Джона Эдвардса с коллегами о девочке с трисомией по хромосоме 18, обнаруженной при культивировании клеток кожи и мышц пациентки. Фенотипические проявления хромосомной патологии включали в себя задержку психомоторного развития, измененную форму черепа, плоскую и широкую переносицу, большие и низко посаженные ушные раковины, маленький треугольный рот, осложняющий ее кормление, микрогению, крыловидные складки на шее, бочкообразную грудную клетку, дефект межжелудочковой перегородки, гипермобильность плечевых суставов, короткие большие пальцы ноги, сжатые в кулак пальцы рук и гепатомегалию [15].

Рассуждая о клинических проявлениях, наблюдаемых у пациентки с трисомией по хромосоме 13, авторы отмечают, что “не вызывает сомнений тот факт, что изменение хромосомного набора является причиной клинических проявлений”. Изменение дозы генов при трисомиях приводит к клиническим проявлениям, что указывает на роль определенного локуса хромосомы в процессах нормального развития органа у диплоидного организма. К. Патау с коллегами полагали, что вскоре можно ожидать появления группы “синдромов трисомий по аутосомам”, в которую войдут 22 нозологии с уникальными клиническими проявлениями [14]. Однако данное предположение не нашло своего подтверждения в будущем.

В последующие годы все больше информации появлялось о хромосомных мутациях, затрагивающих не целые хромосомы, а только некоторые их сегменты. Так, например, в 1961 и 1963 гг. появились первые публикации о пациентах с делециями на коротких плечах хромосом группы В, которые в силу отсутствия методов дифференциальной окраски хромосом не могли быть четко идентифицированы [16]. Различие клинических проявлений перестройки у данных пациентов наталкивало ученых на мысль, что aberrации про-

изошли на разных хромосомах, т.е. на хромосоме 4 и на хромосоме 5. Дальнейшие исследования и анализ первоначально описанных случаев доказали наличие у данных пациентов синдрома Вольфа–Хиршхорна (OMIM 194190) и синдрома кошачьего крика (OMIM 123450) [17].

Успехи в разработке новых молекулярно-генетических методов в конечном итоге способствовали открытию нового типа вариабельности генома – вариаций числа копий участков ДНК (copy number variation, CNV), небольших субмикроскопических перестроек, возникающих вследствие несбалансированных хромосомных aberrаций – делеций и дупликаций [18]. CNV в ряде случаев являются популяционным вариантом нормы, однако зачастую расцениваются как патогенетически значимые структурные перестройки, являющиеся этиологическим фактором развития хромосомных болезней. Благодаря новым технологиям стала возможна полногеномная диагностика синдромов, клиническое описание которым было дано десятилетиями ранее. Так, этиология описанного еще в 1961 г. синдрома Вильямса–Бойрена (OMIM 194050), характеризующегося такими проявлениями, как задержка интеллектуального развития, достаточной развитая речь, гиперсоциализация, эмоциональная лабильность, врожденные пороки сердца (надклапанный стеноз аорты, стеноз легочной артерии), специфическое лицо с широким ртом, маленьким носом, полными губами, отеками верхними и нижними веками (“лицо эльфа”), мышечная гипотония, аномалии скелета и гиперкальциемия, оставалась неясной до 1993 г., когда благодаря использованию технологий Саузерн-блот и флуоресцентной *in situ* гибридизации у пациентов была выявлена гетерозиготная делеция на длинном плече хромосомы 7 в субсегменте 7q11.23, затрагивающая 26–28 генов; при этом в качестве кандидатного гена рассматривался ген *ELN*, кодирующий молекулу эластина [19, 20]. При цитогенетическом исследовании пациентов с синдромом Паллистера–Киллиана (OMIM 601803), для которых характерны пигментные аномалии кожи, черепно-лицевой дисморфизм, врожденные пороки сердца, врожденная диафрагмальная грыжа, гипотония, умственная отсталость и эпилепсия, была выявлена сверхчисленная маркерная хромосома. Впервые пациенты с похожим фенотипом были описаны в 1976 г., а через год было точно определено происхождение маркерной хромосомы как изохромосомы 12p [см. 21]. Использование методов матричной сравнительной геномной гибридизации (агау comparative genome hybridization, aCGH) и анализа SNP для обследования пациентов с данным синдромом способствовало выявлению низкоуровневого мозаицизма по сверхчисленной изохромосоме 12p [22]. Хромосомный регион 12p13.31, включающий в себя 26 генов, рассматривается в настоящее вре-

мя в качестве критической области синдрома Паллистера–Киллиана [21].

Современные молекулярно-генетические технологии позволяют выявлять несбалансированные хромосомные перестройки, затрагивающие единственный ген или его отдельные фрагменты. “Моногенные CNV” и “внутригенные CNV”, нарушая работу единственного гена, зачастую проявляются множеством неспецифических симптомов, что также вносит определенные сложности в установление гено-фенотипических корреляций [23].

### СЛОЖНОСТИ В ОЦЕНКЕ ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ ХРОМОСОМНОГО ДИСБАЛАНСА

На протяжении всего времени изучения патогенеза хромосомных болезней, обусловленных числовыми, крупными и мелкими структурными аномалиями хромосом, возникала проблема установления четкой связи выявляемой при анализе хромосомной патологии и наблюдаемых клинических эффектов. Сложившаяся в медицинской генетике “традиция” трактовки проявлений хромосомной патологии как эффекта изменения дозы генов на определенной хромосоме не всегда адекватно отражает реальную ситуацию. Факт наличия причинно-следственной связи между фенотипом пациента и изменением числа или структуры хромосом не вызывает у генетиков сомнений, однако характер данной связи постоянно подвергается обсуждению [24]. Многочисленные работы по изучению пациентов с хромосомными аномалиями показали, что в большинстве случаев хромосомные синдромы сопровождаются неспецифическими проявлениями, которые могут встречаться как в случае моногенных заболеваний, действия тератогенных факторов, так и наблюдаться у здоровых людей. Так, еще в 1968 г., при проведении детального обследования 27 пациентов с синдромом Эдвардса и 27 пациентов с синдромом Патау А.И. Тэйлор удалось показать, что среди 46 признаков общими у пациентов с трисомией по хромосомам 13 и 18 оказались 44 [25]. К клиническим признакам, частоты которых у пациентов обеих групп сравнения были близки друг к другу, можно отнести задержку развития, трудности в кормлении, желтуху, задержку физического развития, гипотонию, апноэ, судороги, гипертелоризм, эпикант, страбизм, низкопосаженные деформированные уши, микрогнатию, короткую шею, врожденные пороки сердца, паховые и пупочные грыжи, сгибательную деформацию пальцев рук, неопущение яичка. Посмертный анализ выявил такие наиболее часто встречающиеся признаки, как врожденные пороки сердца, аномалии развития почек и кишечника [25]. По мнению автора, трисомии по аутосомам приводят к сбою процессов нормального эмбриогенеза; степень перекры-

вания симптомов обоих синдромов достаточно высока, что, вероятно, может указывать на то, что нарушение внутриутробного развития при обеих патологиях происходит в определенный временной период.

Как и в случае анеуплоидий, изучение генотипических корреляций при микроструктурных перестройках хромосом у пациентов также осложняется наличием неспецифических клинических проявлений аберрации. Данные признаки зачастую не дают врачу-генетику четкого представления о типе хромосомной аномалии, но лишь позволяют заподозрить ее у обследуемого пациента и направить его на проведение микроматричного анализа с целью уточнения диагноза. В качестве примера можно привести выявление лицевых дисморфизмов, задержки интеллектуального развития, расстройств аутистического спектра, шизофрении, эпилепсии, синдрома дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ) у пациентов с широким спектром микроструктурных перестроек: делециями и дупликациями хромосомных регионов 3q29, 7q11.23, 10q11.21–q11.23, 15q11.2, 15q13.3, 16p11.2, 16p13.11, 17q12, 22q11.2 и др. [18]. В свою очередь, каждый из этих рекуррентных синдромов клинически гетерогенен и характеризуется большим числом фенотипических проявлений, экспрессивность которых может варьировать в широких пределах. Выдвигаются гипотезы о влиянии генетического окружения, факторов внешней среды и эпигенетических различий, однако причины такой широкой клинической гетерогенности до сих пор остаются недостаточно изученными [18].

В процессе изучения выявляемых микроделений и микродупликаций хромосом было установлено, что фенотипические проявления CNV зависят от нескольких важных факторов: размера перестройки, количества вовлеченных в нее генов и ее происхождения, т.е. является ли CNV унаследованной от одного из родителей или она возникла *de novo*. Изменение копий дозозависимого гена внутри аберрации может приводить к реализации патологического фенотипа через увеличение или уменьшение количества его белкового продукта. Зачастую хромосомные мутации вызывают смежные генные синдромы, когда в регионе перестройки локализовано несколько генов, что может указывать на наличие не одного, а нескольких дозозависимых генов и вести к формированию более сложной клинической картины [2]. Наличие у носителей реципрокных хромосомных перестроек (микроделений или микродупликаций одного и того же хромосомного региона) зеркальных фенотипов, как, например, макроцефалии при синдроме микроделеции 5q35 и микроцефалии при синдроме микродупликации 5q35, хорошо вписывается в гипотезу, объясняющую клинические проявления синдромов увеличением

или уменьшением количества белкового продукта гена. Помимо изменения дозы гена, другими вероятными причинами формирования клинической картины синдромов реципрокных микроделений и микродупликаций являются нарушения в регуляторных областях генома (нарушение последовательности энхансера, перемещение его в другую область генома, что приводит к усилению экспрессии других генов), образование химерных генов, демаскирование рецессивных мутаций или функциональных SNPs на интактном гомологе в случае микроделений, а также рецессивных мутаций в аллеле с нормальной копийностью в случае снижения активности гена на дублированном гомологе [26]. Так, было показано, что в ряде случаев реципрокные хромосомные перестройки являются причиной не только зеркальных, но также и идентичных, перекрывающихся и уникальных фенотипов у носителей хромосомной аберрации [2]. Данный факт дает основание предположить, что хромосомные мутации затрагивают одинаковые молекулярные пути, в которых участвуют продукты генов из региона перестройки.

На сложность вопроса трактовки эффектов хромосомной перестройки указывают случаи обнаружения пациентов с клиническими проявлениями хромосомного синдрома и нормальным кариотипом. Возвращаясь к исследованию А.И. Тэйлор, стоит отметить, что у пациентов с клиническими проявлениями синдрома Патау (два пациента) и синдрома Эдвардса (один пациент) при цитогенетическом исследовании был выявлен диплоидный кариотип [25]. При обследовании пациентов с клиническим диагнозом синдрома Дауна у 23–36% обследованных был обнаружен нормальный хромосомный набор [27, 28]. Данные, полученные в описанных выше работах, наталкивают на мысль, что для проявления у пациента специфических клинических признаков, свойственных трисомии, не обязательно наличие дополнительной хромосомы, а фенотипический эффект хромосомных аномалий может проявляться в результате мутаций в единичных генах [24]. Тем не менее в данном случае нельзя исключить невыявленный межтканевой мозаицизм по хромосомной мутации.

В своих ранее проведенных исследованиях, направленных на изучение реализации фенотипического эффекта хромосомных аномалий у человека, К.Н. Гринберг и В.И. Кухаренко выдвинули предположение, что наблюдаемые при хромосомных мутациях фенотипические проявления есть результат не изменения, а замедления развития структур организма, возникающего вследствие нарушения основных клеточных функций [24]. Было показано, что при разнообразных хромосомных аномалиях наблюдаются сходные изменения на клеточном уровне организации: нарушение морфологии клеток с анеуплоидиями, отсутствие спо-

способности организовывать клеточный слой, нарушение процессов пролиферации, миграции, специфической рецепции и синтеза компонентов межклеточного матрикса. Основываясь на сходных цитохимических изменениях, наблюдаемых в культурах клеток с aberrантным набором хромосом, ученые выдвинули предположение о “клеточном синдроме” у носителей хромосомных перестроек. Основным звеном патогенеза хромосомного дисбаланса, по мнению авторов, является замедление созревания клеточных и тканевых структур, сходно проявляющееся у носителей разного типа перестроек недоразвитием, или “запаздыванием формообразования”, органа [24].

Ранее сложившийся “подход от фенотипа” в диагностике хромосомных аномалий — исследование клинически однородной группы пациентов — вскоре сменился новым “подходом от генотипа” — анализ перекрывающихся CNV в клинически гетерогенной группе. В настоящее время данный подход является доминирующим при исследовании новых случаев CNV и выделении новых хромосомных синдромов [2]. Выявление пациентов с потенциально патогенными CNV, сравнение геномных координат регионов перестроек, выявление минимального перекрывающегося региона и оценка его генного состава позволяют генетикам сузить круг генов-кандидатов микроделеционного или микродупликационного синдрома. Сравнение общих фенотипических признаков пациентов с перекрывающимися регионами перестроек может дать важную информацию о нарушении работы потенциально значимых для развития данного синдрома генов [18].

#### АНАЛИЗ ГЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ ПРИ ХРОМОСОМНЫХ БОЛЕЗНЯХ

Важным этапом в изучении патогенеза и причин фенотипических проявлений хромосомного дисбаланса является проведение полнотранскриптомного анализа. Транскриптом клетки можно рассматривать как промежуточный молекулярный фенотип между генотипом и фенотипом пациента на уровне организма. Исследование особенностей полногеномной экспрессии генов позволяет оценить сложные взаимодействия между многочисленными вариантами кодирующей, регуляторной ДНК и хроматином. Показано, что уровень экспрессии генов позволяет обнаружить незначительные различия между индивидами и дифференцировать индивидов без хромосомных aberrаций, гетерозиготных носителей и пациентов, гомозиготных по аутосомно-рецессивной мутации, при этом стоит отметить, что первые две группы фенотипически неразличимы на уровне организма [29]. Изменение экспрессии генов, затронутых перестройкой, может как напрямую влиять на фенотип пациента, так и опосредованно вносить

изменения в молекулярные сети белковых взаимодействий, что может объяснить плейотропный эффект хромосомных мутаций.

Исследование М. Волк с соавт., ставшее первой работой по изучению особенностей изменения генной экспрессии при различных анеуплоидиях, было направлено на выявление общего паттерна дисрегуляции активности генов в клетках пациентов с трисомией по хромосомам 18 и 21, а также на поиск общих механизмов развития данных хромосомных болезней [30]. В данном исследовании было высказано предположение, что жизнеспособность клетка с хромосомными мутациями может быть связана с активацией механизмов устойчивости к дисбалансу по большому числу генов, общих для разных анеуплоидий. При проведении полнотранскриптомного анализа на микрочипах была использована РНК, выделенная из клеток амниотической жидкости плодов с трисомиями по хромосомам 18 и 21. Сравнение дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) в клетках с трисомиями 18 и 21 позволило выявить 41 общий ДЭГ, при этом шесть из них однонаправленно изменяли свою экспрессию как при трисомии 18, так и при трисомии 21: *OTUD5*, *ADAMTSL1*, *TADA2A*, *PPID*, *PIAS2* и *MAPRE2*. Продукты данных генов участвуют в таких важных для организма биологических процессах, как убиквитинирование и сумоилирование (*OTUD5*, *PIAS2*), фолдинг белка (*ADAMTSL1*, *PPID*), ремоделирование хроматина (*TADA2A*), пролиферация клеток и апоптоз (*MAPRE2*). Анализ обогащения ДЭГ показал, что в клетках пациентов с синдромами Эдвардса и Дауна происходит нарушение регуляции сигнального пути PI3K/AKT, G2/M-контрольной точки, клеточного выживания и гибели, а также ингибирование регулятора *TP53* [30].

Особенности патогенеза синдрома Паллистера—Киллиана (присутствие сверхчисленной изохромосомы 12p в клетках кожи, ворсинах хориона и амниотической жидкости, а также низкая вероятность обнаружения маркерной хромосомы в лимфоцитах крови после рождения ребенка вследствие избирательного роста нормальных дисомных клеток в его костном мозге) делают культуры фибробластов кожи удобной модельной системой изучения патогенеза данной хромосомной болезни [31].

М. Каур с соавт. провели анализ генной экспрессии в культурах фибробластов кожи 17 пациентов с синдромом Паллистера—Киллиана и девяти здоровых пациентов из контрольной группы. Полнотранскриптомный микроматричный анализ выявил 354 ДЭГ, 174 с пониженной и 180 с повышенной относительно нормы экспрессией. Продукты ДЭГ были задействованы во множестве важных для развития организма биологических

процессах, регуляции сигнальной трансдукции, клеточной морфологии и клеточных контактах. Повышенная экспрессия была показана для кластера гомеобоксных генов *HOXB* (B2, B3, B5, B6, B7), в то время как гипохеэкспрессированными оказались гены кластера гомеобоксных генов *HOXA* (A1, A5, A11, A13) [31].

Из 180 гиперэкспрессирующихся генов 57 (32%) были локализованы на коротком плече хромосомы 12, при этом ни для одного ДЭГ из данного региона не было характерно снижение экспрессии. Наиболее статистически значимое изменение экспрессии было показано для генов ранее описанного минимального критического региона перестройки – хромосомной области 12p13.31, тем самым подтверждая предположение о патогенетической значимости данного региона [31]. Помимо гиперэкспрессии генов из критического региона, удалось выявить изменение экспрессии ряда генов (*ZFPM2*, *GATA6*, *SOX9*, *IGFBP2*), локализованных в других областях генома (8q23, 18q11, 17q24.3 и 2q35 соответственно), нарушение нормальной работы которых может объяснить некоторые клинические проявления данного хромосомного заболевания [31].

Проведенный полнотранскриптомный анализ позволил сделать предположение о патогенезе хромосомного синдрома на основании данных об особенностях экспрессии. Продукт гиперэкспрессирующегося гена *ATN1*, локализованного на коротком плече хромосомы 12, взаимодействует с продуктом гена *CREBBP*, важного регулятора транскрипции; *CREBBP*, в свою очередь, взаимодействует с гомеобоксными генами кластера *HOXB*. Стоит отметить, что анализ не показал изменения экспрессии самого *CREBBP*. Было выделено несколько генов-кандидатов развития синдрома Паллистера–Киллиана: *CLEC2B*, *ING4*, *ATN1* и *NCAPD2* (регион 12p13.31), *ZFPM2* (8q23), *GATA6* (18q11) и *SOX9* (17q24.3) [31]. Авторы пришли к заключению, что данная хромосомная болезнь возникает вследствие глобальной дисрегуляции транскрипции и нарушения процессов раннего эмбрионального развития.

#### МОДЕЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ ХРОМОСОМНЫХ БОЛЕЗНЕЙ НА ОСНОВЕ ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

В ряде случаев изучение транскрипционных изменений затруднялось возможностью получения целевого типа клеток для анализа. Использование для полнотранскриптомного исследования модельных систем на основе персонифицированных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) от пациентов с хромосомными мутациями помогло решить данную проблему.

В 2006 г. в прорывных исследованиях К. Такахаши и С. Яманака, проведенных на фибробластах мышцы, а затем и в исследованиях М. Верниг с соавт. было показано, что дифференцированные соматические клетки могут быть перепрограммированы в ИПСК с помощью ретровирусных векторов, несущих четыре транскрипционных фактора (Oct-3/4, Sox2, c-Myc и KLF4) [32, 33]. Данный метод стал альтернативой уже существующим методам переноса ядер соматических клеток в лишенный ядра ооцит, слияния соматических клеток с эмбриональными плюрипотентными стволовыми клетками и спонтанного репрограммирования при длительном культивировании примордиальных зародышевых клеток и клеток костного мозга [34]. Открытие нового метода репрограммирования соматических клеток, взятых от пациентов, позволило решить некоторые этические проблемы, возникающие при использовании в экспериментах эмбриональных стволовых клеток человека, и открыло для ученых широкий простор для деятельности.

Особый интерес для исследователей представляют модельные системы на основе ИПСК от пациентов с нейродегенеративными, нейропсихиатрическими заболеваниями и состояниями, характеризующимися нарушением нервно-психического развития [35–37]. Данные системы не только могут быть полезны при изучении патогенеза заболеваний, но также могут быть использованы для поиска эффективных средств фармакологического лечения и, вероятно, разработки алгоритмов регенерации старых и поврежденных нейронов, а также персонализированной клеточной терапии и тканевой инженерии [38–40].

Многие психоневрологические расстройства, в том числе синдром Ретта (OMIM 312750), синдром Тимоти (OMIM 601005), биполярное расстройство, шизофрения и расстройства аутистического спектра, были смоделированы с использованием ИПСК, нейрональных клеток-предшественниц (НКП) и дифференцированных из ИПСК нейронов [41]. Работы по изучению механизмов развития нейродегенеративных заболеваний на модельных системах ИПСК ведутся и в отечественных лабораториях. Так, в настоящий момент известны исследования молекулярно-генетических основ патогенеза хореи Хантингтона (OMIM 143100) [42, 43], болезни Паркинсона [44], болезни Штаргардта [45], бокового амиотрофического склероза [46] и спинальной мышечной атрофии [47].

Новая технология предоставила множество возможностей для изучения молекулярных проявлений хромосомной аберрации. Ранее недоступные для анализа клетки (в частности, нейроны) теперь можно было получить из ИПСК, дифференцируя

их с помощью специальных вирусных конструкций, несущих определенные транскрипционные факторы. С. Хаттак с соавт. использовали данную технологию для получения и изучения кортикальных нейронов с микроделецией 7q11.23 и нейронов без хромосомной перестройки, и также пришли к выводу о глобальной дисрегуляции экспрессии в клетках головного мозга пациентов с синдромом Вильямса—Бойрена [48]. Для полученных нейронов с хромосомной аберрацией были характерны нарушение их электрофизиологических свойств и дисрегуляция транскрипции. Нейроны продемонстрировали серьезные нарушения в генерации потенциала действия, в частности значительно увеличенную фазу реполяризации и снижение тока ионов через потенциал-активируемые калиевые каналы.

Экспрессия генов, локализованных в субсегменте 7q11.23, составила менее 50% от уровня экспрессии нейронов без хромосомной перестройки, что вполне соответствует теоретическим ожиданиям. Электрофизиологические нарушения в нейронах подтолкнули ученых к идее проанализировать экспрессию генов, кодирующих субъединицы комплекса потенциал-зависимого калиевого канала (*KCNIP4*, *KCNMB1*, *KCNMB2*, *KCNMA1*), а также вовлеченных в функционирование этого комплекса белков, кодируемых локализованными в субсегменте 7q11.23 генами *STX1A* и *SNAP25S*. Экспрессия данных генов также оказалась сниженной. Была показана гиперэкспрессия гена *GRIK1* и сниженная экспрессия гена *GABRA3*, кодирующих субъединицу глутаматного ГАМК-ергического рецепторов, соответственно. Дисрегуляция экспрессии данных генов может указывать на нарушение процессов сигналинга и функций нейронов у пациентов с синдромом Вильямса—Бойрена [48].

Изучение молекулярных механизмов патогенеза хромосомных болезней в случае оценки изменения экспрессии в линиях ИПСК с аберрациями в сравнении с контрольной линией ИПСК всегда осложняется влиянием генетического фона на результаты полнотранскриптомного анализа, поскольку у разных индивидов наблюдается вариабельность экспрессии мРНК. Для уменьшения влияния генетического окружения на результаты исследования ценными оказались уникальные модельные системы, в которых как трисомные, так и дисомные клетки были получены от одного и того же индивида. В данном случае можно было ожидать, что изменения экспрессии генов в клетках с трисомией 21 вызвано именно наличием дополнительной хромосомы. Так, Л.Б. Ли с коллегами с помощью химерного трансгена *TKNEO*, внесенного в последовательность ДНК одной из трех хромосом 21, смогли отобрать клоны дисомных и

трисомных ИПСК для дальнейшего анализа, в ходе которого было продемонстрировано замедление процессов пролиферации клеток с трисомией в культуре [49]. Полнотранскриптомный анализ показал увеличение экспрессии генов, локализованных на хромосоме 21, а также небольшого числа генов, находящихся в других регионах генома, экспрессия которых возросла более чем в 2 раза в сравнении с экспрессией в дисомных клетках (*ACTA2*, *PTRF* и *RPL39L*). В работе Дж.П. Вейк с соавт. в качестве контрольной линии клеток были использованы ИПСК, полученные от пациента с мозаичным вариантом синдрома Дауна [50]. Нейроны, дифференцированные из ИПСК с трисомией 21, продемонстрировали снижение активности как возбуждающих, так и тормозящих синапсов, однако процессы раннего развития и дифференцировки предшественников кортикальных нейронов в культурах с трисомией не были нарушены. Проведенный полнотранскриптомный анализ показал, что большая часть ДЭГ, локализованных на хромосоме 21 (90%; 125 из 139 генов), была гиперэкспрессирована, тем не менее наиболее значительное изменение экспрессии в культурах ИПСК и нейронах было показано для генов, не локализованных на хромосоме 21, в частности для *CAT* (11p13), *CRYZ* (1p31.1), *ZNF717* (3p12.3), *ZNF560* (19p13.2), продукты которых вовлечены в процессы активации транскрипции и ответа на окислительный стресс [50]. В исследовании Дж. Цзян с соавт. была использована система с трансгеном *XIST*, направленная на компенсацию дозы генов посредством инактивации лишней копии хромосомы 21 для получения дисомных и трисомных клонов ИПСК [51]. Полнотранскриптомный анализ на микрочипах показал различия в экспрессии приблизительно 200 генов во всех трех трансгенных субклонах в сравнении с трисомным клоном ИПСК.

Проблему влияния генетического фона на результаты полнотранскриптомного анализа также удалось решить И. Хибаоуи с коллегами — в качестве контрольной линии клеток они использовали ИПСК, полученные от пациента с нормальным кариотипом, монозиготный близнец которого обладал дополнительной хромосомой 21 [52]. Полнотранскриптомный анализ, проведенный на материале линий ИПСК с трисомией 21 и без нее, показал повышение экспрессии большого числа генов, локализованных на хромосоме 21. Было выявлено 580 гипо- и 624 гиперэкспрессирующихся гена в линии ИПСК, полученных от пациента с синдромом Дауна, что в процентном соотношении составило 2.84 и 3.05 от всего генома. Анализ геной онтологии (GO analysis) показал, что продукты гипоекспрессирующихся генов во-

влечены в такие процессы, как “эмбриональное развитие и морфогенез”, “морфогенез и развитие органов и систем”. Среди данных 580 генов 96 были связаны с развитием центральной и периферической нервной системы, развитием мозга, нейрогенезом, аксоногенезом, а также генерацией и дифференцировкой нейронов. Продукты 624 гиперэкспрессирующихся генов были вовлечены в процессы биосинтеза, метаболизма РНК, регуляции транскрипции и ДНК-зависимой транскрипции. Стоит отметить, что полнотранскриптомный анализ показал изменение экспрессии генов, не локализованных на хромосоме 21, что подтверждает предположение об изменениях, происходящих при трисомии на уровне всего транскриптома клетки [52].

ИПСК с трисомией 21 продемонстрировали нарушенную нейрональную экспрессию *in vivo* и *in vitro*. Так, при внутримышечном введении мышам ИПСК, полученных от пациента с трисомией по хромосоме 21, нарушалось образование тератомы с тремя зародышевыми листками: вместо нее в месте инъекции обнаружили образование с множественными кистами, окруженное недифференцированной мезенхимой, при этом наружный зародышевый листок (эктодерма) отсутствовал. НКП из нейросфер, полученных из ИПСК с трисомией 21, продемонстрировали дефицит пролиферации, трехкратное увеличение апоптотических ядер и двукратное повышение активности каспазы 3 по сравнению с результатами в контроле [52]. При дифференцировке линий НКП в нейроны была показана сниженная экспрессия нейрональных (b3-TUBULIN и MAP2) и повышенная экспрессия глиальных маркеров (GFAP, VIMENTIN, S100B, OLIG1 и OLIG2), что подтвердило предположение о нарушении нейрогенеза. Нейроны с трисомией 21 имели сниженное число нейритов (аксонов и дендритов) и их уменьшенную длину по сравнению с аналогичными показателями в нейронах контрольной группы. Плотность синаптических контактов была снижена в группе нейронов с дополнительной хромосомой 21 [52].

На основе ранее полученных данных о вероятной роли молекулы DYRK1A в патогенезе синдрома Дауна была изучена ее роль в процессах, протекающих в НКП и нейронах. В клетках с хромосомной мутацией количество белка увеличивалось почти в 2 раза, а добавление в культуры селективного ингибитора DYRK1A галлата эпигаллокатехина (ЭГ) — соединения, присутствующего в большом количестве в листьях зеленого чая, сопровождалось снижением экспрессии белка почти до уровня нормы. Добавление ЭГ увеличивало число НКП за счет снижения апоптоза и стимулирования проли-

ферации клеток. Аналогичный эффект был достигнут при нокдауне гена DYRK1A. Использование ЭГ или нокдауна гена DYRK1A способствовало улучшению процессов нейрогенеза при дифференцировке НКП в нейроны (усиление экспрессии нейрональных маркеров b3-TUBULIN и MAP2). Оценка экспрессии важных для нейрогенеза генов и работы сигнальных путей, в частности REST/NRSF и сигнальных путей WNT и NOTCH, продемонстрировала снижение экспрессии генов REST и NRSF, NOTCH1 и NOTCH2, а также DLL1 и HES1, которые кодируют лиганд NOTCH1 и его целевой белковый продукт. Снижение экспрессии гена DYRK1A до нормального уровня за счет нокдауна гена усиливало экспрессию всех вышеописанных генов [52].

Случай рождения монозиготных близнецов, дискордантных по трисомии, был достаточно уникальным для исследователей, занимающихся изучением патогенеза синдрома Дауна, поэтому работы с клеточным материалом, полученным от данных пациентов, были продолжены. А. Летурно с соавт. изучили особенности экспрессии генов в фибробластах монозиготных близнецов [53]. ДЭГ были организованы в 337 доменов (домены дисрегуляции генной экспрессии, gene expression dysregulation domains, GEDDs) на всех хромосомах, при этом группы гиперэкспрессирующихся генов чередовались с группами гипоекспрессирующихся генов. GEDD варьировали по размеру и числу локализованных в них генов (средняя протяженность 3.2 млн пн, среднее число генов 20). Данный паттерн изменения экспрессии не прослеживался в случае оценки экспрессии в фибробластах, полученных от пары здоровых монозиготных близнецов, что дало основание предположить, что дисрегуляция транскрипции вызвана именно дополнительной копией хромосомы 21 [53].

Схожий паттерн изменения экспрессии генов, как и в случае с GEDD, прослеживался и в ИПСК, полученных из фибробластов данных пациентов. Подобная тенденция была подтверждена при сравнении экспрессии в клетках модельной мышинной системы трисомии 21 и у контрольной группы мышей без хромосомной мутации. Примечательно, что GEDD совпадали с доменами, ассоциированными с ядерной мембраной (lamina-associated domains, LADs), и доменами репликации клеток млекопитающих. В клетках здоровых индивидов экспрессия генов в LAD снижена; однако, в соответствии с GEDD, в клетках с трисомией 21 происходила повторная активация экспрессии в LAD [53]. Данные результаты могут указывать на то, что взаимодействие хроматина с ядерной мембраной в клетках с трисомией 21 нарушено. Сравнение с доменами репликации млекопитающих

также подтвердило их корреляцию с GEDD: в трисомных клетках экспрессия ранореплицирующихся активных генов, локализованных в центре ядра, подвергается ингибированию, в то время как экспрессия генов на периферии клеточного ядра активируется.

Было показано, что уровни триметилированных гистонов H3K4 в клетках с трисомией 21 коррелируют с GEDD [53]. Результаты исследования показывают, что ядерные компартменты трисомных клеток подвергаются эпигенетическим модификациям, что влияет на процессы транскрипции, поэтому, вероятно, GEDD могут способствовать некоторым фенотипическим проявлениям трисомии 21.

Было высказано предположение, что гиперэкспрессия ряда генов (*HLCS*, *HMGNI*, *DYRK1A*, *BRWD1* и *RUNX1*) может приводить к изменению структуры и функции хроматина посредством модификаций гистонов, что, в свою очередь, приводит к изменениям компартиментализации и процессов транскрипции. Данные изменения, вызванные дополнительным генетическим материалом в ядре, могут объяснять и нарушение регуляции экспрессии генов в случае других анеуплоидий [53]. Полнотранскриптомный анализ выявил 182 ДЭГ, при этом 42 из них кодировали длинные некодирующие РНК. Анализ геной онтологии показал, что продукты ДЭГ вовлечены в такие процессы, как сигналинг, воспалительная реакция, взаимодействие цитокиновых рецепторов [53].

Глобальные изменения экспрессии, вероятно лежащие в основе фенотипических проявлений синдрома Дауна, были исследованы П.К. Гонзалес с соавт. в работе, проведенной на материале дисомных и трисомных клонов ИПСК, полученных от одного пациента с мозаичной трисомией 21 [54]. Были рассмотрены и другие вопросы, касающиеся транскриптома клетки, такие как редактирование РНК заменой аденозина на инозин, альтернативный сплайсинг и экспрессия повторяющихся элементов генома. Значительные изменения в процессах накопления транскрипта, альтернативного сплайсинга и экспрессии повторяющихся элементов генома были характерны для клеток с дополнительной копией хромосомы 21. Примечательно, что уровень экспрессии нейрон-ассоциированных генов был выше в ИПСК и нейронах с трисомией 21 в сравнении с дисомными клетками. Кроме того, ИПСК с хромосомной мутацией успешнее дифференцировались в нейроны [54]. Вероятно, дополнительная копия хромосомы 21 не накладывает ограничения на процессы дифференцировки ИПСК в нейрональном направлении, однако препятствует сохранению клетками их плюрипотентного состояния. При секвенировании РНК

ИПСК с двумя и тремя копиями хромосомы 21 были идентифицированы 1644 ДЭГ (834 гипо- и 810 гиперэкспрессирующихся генов). Продукты генов с повышенной экспрессией в группе ИПСК с трисомией 21 были вовлечены в нейрогенез и функционирование нервной системы (в частности, *GRIN3A*, *GABRA2*, *STMN2*, *UNC5C*, *MAP2*), а продукты гипоекспрессирующихся генов участвовали в таких процессах, как клеточная адгезия и развитие зародышевых листков (*KLF4*, *NODAL*, *LEFTY1* и *LEFTY2*) [54]. Примечательно, что продукты данных генов также необходимы для поддержания клеткой плюрипотентного состояния. При проведении полнотранскриптомного анализа дисомных и трисомных нейрональных культур было выявлено 1377 ДЭГ, при этом для 1165 из них было показано снижение, а для 212 — повышение экспрессии. Анализ геной онтологии выявил схожие для ИПСК и нейронов группы биологических процессов, в которых были задействованы продукты ДЭГ [54].

В ходе изучения культур нейронов с трисомией 21, дифференцированных из ИПСК, было показано увеличение экспрессии гена *ADARBI*, продукт которого участвует в пост-транскрипционном редактировании РНК, однако глобальных изменений в этом процессе не было выявлено. В трисомных ИПСК было показано значительное снижение экспрессии ретротранспозона *HERVH-int*, участвующего в поддержании клеткой плюрипотентного состояния. Была показана дисрегуляция процессов сплайсинга в трисомных клетках, при этом изменения чаще всего не касались генов, локализованных на хромосоме 21. Возможно, данный эффект является следствием увеличения транскрипции в ИПСК и нейронах генов, кодирующих факторы сплайсинга (*U2AF1*, *SON* и *SCAF4*), а также гена *DYRK1A*, локализованных на хромосоме 21 [54].

#### ПОЛНОТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ ПРИ РЕЦИПРОКНЫХ CNV

Одной из целей работ, которые преследовал А. Адамо с коллегами [55], стал ответ на вопрос, на каком этапе развития организма становится информативной модельная система на основе ИПСК, полученных от пациентов с микроструктурными хромосомными нарушениями. Была исследована дозозависимая дисрегуляция в линиях ИПСК с реципрокными изменениями числа копий хромосомного региона 7q11.23, вызывающими у их носителей синдром Вильямса—Бойрена и синдром микродупликации 7q11.23 (OMIM 194050 и 609757 соответственно), характеризующиеся зеркальными фенотипическими проявлениями [55]. Для

пациентов с синдромом Вильямса–Бойрена частыми клиническими проявлениями хромосомной аберрации являются лицевые дисморфии, патология сердечно-сосудистой системы, а также отличительный когнитивно-поведенческий профиль – гиперсоциализация с сохранными речевыми навыками, но нарушенным визуальным и пространственным восприятием, способностью к счету и планированию. В случае микродупликации 7q11.23 у пациентов, напротив, чаще всего диагностируют расстройства аутистического спектра, грубую задержку речевого развития и черепно-лицевые дисморфизмы. Обе хромосомные перестройки проявляются тревожностью и синдромом дефицита внимания и гиперактивности. Несмотря на изучение подобных состояний на мышиных моделях, до сих пор остаются неизвестными молекулярные пути, затрагиваемые CNV в регионе 7q11.23 [55].

Было показано, что наличие в фибробластах CNV в исследуемом регионе не влияет на восстановление плюрипотентности клеток. Установлено, что существует прямая корреляция между экспрессией генов субсегмента 7q11.23 и дозой этих генов: снижение экспрессии для генов в линиях ИПСК с делецией и повышение экспрессии в линиях ИПСК с дупликацией [55]. Сравнение уровней экспрессии белка GTF2, кодируемого кандидатным геном данных синдромов, методом иммуноблоттинга показало связь с дозой этого гена в линиях ИПСК с разным типом перестройки. При парном сравнении трех генотипов (делеция, дупликация, норма) выявлено 757 ДЭГ, анализ обогащения которых показал значительную представленность генов, продукты которых вовлечены в биологические процессы, имеющие прямое отношение к фенотипу пациентов с синдромом Вильямса–Бойрена и микродупликации 7q11.23 и органам-мишеням данных состояний (клеточная адгезия, миграция и подвижность; клеточный гомеостаз ионов кальция; морфогенез внутреннего уха; миграция и дифференцировка клеток нервного гребня, развитие скелетных мышц; развитие кровеносных сосудов и развитие сердечно-сосудистой системы; развитие почечного эпителия и др.) [55].

Большинство ДЭГ в линиях с делецией и дупликацией демонстрировали противоположные изменения или однонаправленные изменения экспрессии в сравнении с контрольной группой, что дает основание предположить, что разнонаправленное изменение дозы генов затрагивает одни и те же транскрипционные программы [55]. Анализ обогащения 166 ДЭГ, однонаправлено изменяющих свою экспрессию в обеих группах сравнения, продемонстрировал значимое обога-

щение генов, продукты которых вовлечены в процессы синаптической передачи; в частности, в эту группу вошли гены *PDLIM1* и *MYH14*, нарушения работы которых, вероятно, приводят к развитию СДВГ, нарушению роста нейритов, гиперакузии, дефектам сердечно-сосудистой системы [55].

Было подробно изучено влияние нарушения дозы гена *GTF2I*, кодирующего общий фактор транскрипции, на формирование патологического фенотипа пациентов с синдромами Вильямса–Бойрена и микродупликации 7q11.23 [55]. В линиях ИПСК с дупликацией исследователи использовали опосредованную лентивирусами РНК-интерференцию с целью вернуть уровень экспрессии *GTF2I* до соответствующих значений в контрольной группе; в контрольной линии ИПСК был проведен нокаун гена *GTF2I* и отобраны клоны, в которых уровни экспрессии данного гена соответствуют аналогичному показателю в клетках, полученных от пациентов с синдромом Вильямса–Бойрена. В случае линий ИПСК с микроделецией 7q11.23 был проведен нокаун гена *GTF2I*. Данные РНК-секвенирования линий ИПСК с нокаутом по гену *GTF2I* показали, что *GTF2I* ответствен за 10–20% наблюдаемой дисрегуляции транскрипции. В процессе исследования удалось показать, что *GTF2I* субстехиометрически связан с двумя молекулами транскрипционных репрессоров (гистоновая деметилаза *LSD1*, также известная как *KDM1A*, и гистоновая деацетилаза *HDAC2*) [55].

Было показано, что CNV в субсегменте 7q11.23 влияют на транскрипционный профиль клеток, начиная с их плюрипотентного состояния. Различия в профиле экспрессии линий ИПСК с перестройками и контрольными линиями клеток усиливались в процессе их направленной дифференцировки в целевые типы клеток (НКП, стволовые клетки нервного гребня и мезенхимальные стволовые клетки), т.е. очевидно, что происходило аккумулятивное транскрипционных изменений в процессе развития организма с микроделециями и микродупликациями в субсегменте 7q11.23 [55]. В случае транскрипционного анализа НКП значимо изменяли свою экспрессию гены, вовлеченные в процессы аксонального наведения, регуляции секреции трансмисмиттеров, негативной регуляции аксоногенеза, передачи нервного импульса, клеточной адгезии и морфогенеза черепных нервов. В стволовых клетках нервного гребня дифференциальная экспрессия была показана для генов, ассоциированных с развитием черепно-лицевых аномалий (*ATP2C1*, *HNAT*, *LMNB1*, *MAPK8*, *PTCH1* и *SATB2*) и Rho-сигналинга посредством семейства Rho ГТФаз (*WASF1*, *GFAP*, *ACTR2*, *STMN1*, *MAPK8*, *ARHGEP11* и *PLXNA1*). ДЭГ, выявленные в процессе полно-

ловых клеток, были значимо обогащены в категориях, связанных с тканевой морфологией [55].

ИПСК и НКП, полученные от пациентов с гетерозиготными реципрокными микроделециями (OMIM 612001) и микродупликациями субсегмента 15q13.3, также были использованы в качестве модельной системы в работе М. Гиллентайн с соавт. [41]. Было изучено влияние дисрегуляции активности кандидатного гена *CHRNA7*, экспрессирующегося преимущественно в гипоталамусе и кодирующего  $\alpha 7$ -никотиновый ацетилхолиновый рецептор, на фенотипические проявления данных реципрокных синдромов (в частности, задержку развития, умственную отсталость, расстройства аутистического спектра, эпилептические приступы и шизофрению). Показано, что продукт гена *CHRNA7* вовлечен в процессы обучения, памяти и внимания. Примечательно, что в случае как делеции, так и дупликации субсегмента 15q13.3 было отмечено уменьшение тока ионов кальция через никотиновый холинорецептор. В норме ток ионов кальция может активировать вторичные мессенджеры, деполяризовать мембрану и активировать потенциал-зависимые ионные каналы, увеличивая тем самым дальнейший ток ионов кальция через мембрану и высвобождение кальция из внутренних депо. Это приводит к активации нижестоящих сигнальных эффекторов кальция, которые участвуют во множестве клеточных процессов [41].

Было показано, что гаплонедостаточность *CHRNA7* при микроделеции 15q13.3 способствовала снижению тока ионов кальция. В случае микродупликации отмечалась гиперэкспрессия гена *CHRNA7*, что приводило к повышению экспрессии специфичных шаперонов и стрессу эндоплазматического ретикулаума [41]. Данное состояние сопровождалось нарушением включения  $\alpha 7$ -субъединицы в комплекс никотинового ацетилхолинового рецептора, локализованного на клеточной мембране. В данном случае нарушались зависимые от кальциевого тока каскады внутриклеточных реакций. Наличие реципрокных микроструктурных перестроек у индивидов и общее звено патологического проявления мутации (снижение тока ионов кальция через никотиновый холинорецептор), вероятно, может объяснить наличие у пациентов общих фенотипических проявлений, в частности нейропсихических заболеваний и когнитивных нарушений [41].

Нарушение сборки субъединиц  $\alpha 7$ -никотинового ацетилхолинового рецептора и транспорта молекул комплекса в наружную клеточную мембрану может быть связано с функционированием кодирующих шапероны генов *RIC3* (OMIM 610509) и *NACHO*. Было показано, что их экспрессия бы-

ла значительно увеличена в НКП с микродупликацией 15q13.3 и, наоборот, снижена в НКП с микроделецией 15q13.3 [41].

Нарушение функционирования  $\alpha 7$ -никотинового ацетилхолинового рецептора, а также снижение тока ионов кальция через клеточную мембрану могут повлиять на возбудимость нейронов и высвобождение нейромедиаторов, а также на работу ряда сигнальных путей трансдукции. Было показано снижение экспрессии участников сигнального пути JAK2-PI3K, отвечающего за реализацию антиапоптотических, противовоспалительных и нейропротективных эффектов. Авторы приходят к заключению, что CNV в субсегменте 15q13.3 приводят к снижению тока ионов кальция, что, в свою очередь, способствует дисрегуляции экспрессии на уровне целой клетки [41].

Реципрокные микроделеции и микродупликации области 15q11–q13.1 были исследованы Н.Д. Жермен с соавт. с помощью транскриптомного анализа в модельной системе нейронов, дифференцированных из ИПСК пациентов с синдромом Ангельмана (OMIM 105830) и синдромом микродупликации 15q11–q13.1 (OMIM 608636), вызванным наличием сверхчисленной изодицентрической хромосомы 15 [56]. Дупликации области 15q11–q13.1 на материнской хромосоме ассоциированы с развитием аутизма, гипотонии, с задержкой развития, отклонениями в поведении, нарушением речевого развития, эпилептиформными приступами, нарушениями в сфере социальных взаимодействий, вербального и невербального общения. Делеции на материнском гомологе в данной области связаны с проявлением симптомов синдрома Ангельмана: нарушением развития ЦНС, судорожными припадками, отсутствием речи и задержкой развития. Сравнение транскрипционных профилей в нейронах с микроделецией 15q11–q13.1 и изодицентрической хромосомой 15 показало, что, несмотря на противоположный характер изменения копияности данного хромосомного региона, выявленные ДЭГ изменяли свою экспрессию однонаправленно в обеих группах исследуемых клеток [56]. Так, в группе нейронов с изодицентрической хромосомой 15 было выявлено 5369 ДЭГ в сравнении с экспрессией генов в нервных клетках, дифференцированных из ИПСК с нормальным кариотипом; в группе нейронов с микроделецией 15q11–q13.1 было выявлено 1667 ДЭГ. Общим ДЭГ для двух групп нейронов с хромосомными aberrациями оказался 751 ген, при этом 76% продемонстрировали общую тенденцию в изменении характера экспрессии (гипо- или гиперэкспрессия в обеих группах сравнения относительно контрольной группы клеток) [56]. Было выявлено

снижение экспрессии генов, кандидатных для развития аутизма и эпилепсии (*DLX2, ARX, ISL1, NLGN1, SHANK1, ADORA2A, DLX5*), а также генов, продукты которых вовлечены в процессы развития нейронов. В случае гиперэкспрессирующихся генов наиболее значимое изменение экспрессии было показано для генов, продукты которых вовлечены в клеточный цикл и катаболизм белков [56].

### ОСОБЕННОСТИ ГЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ ПРИ МОНОГЕННЫХ CNV

На настоящий момент в литературе уже есть упоминания о модельных системах, воспроизводящих эффекты “моногенных” хромосомных aberrаций, в частности моделирующих моногенные делеции, затрагивающие определенный ген. Так, в частности, в одной из работ Дж. Чен с соавт. с помощью ИПСК с нокдауном гена *ZNF804A*, являющегося кандидатным геном развития шизофрении, расстройств аутистического спектра и биполярного расстройства, были исследованы особенности генной экспрессии в нейронах [57]. Было выявлено 370 ДЭГ: 125 гипо- и 245 гиперэкспрессирующихся генов ( $FDR < 0.05$ ). Наиболее значимые транскрипционные изменения были показаны для генов *TIMP1, LINC00645, IFITM3, IFITM2, KAL1, RTL1* и *PCDH7* (снижение экспрессии) и *KIRREL2, ZIC3, MTFP1, PALM3* и *KIF4A* (повышение экспрессии). Примечательно, что продукты гипоекспрессирующихся генов были вовлечены в патогенез таких состояний, как нервно-мышечные заболевания, дискинезия, двигательные расстройства, болезнь Хантингтона, шизофрения, эпилепсия, биполярное расстройство, воспалительные демиелинизирующие заболевания, прогрессирующие нейропатии и др. Анализ обогащения показал, что продукты гипоекспрессирующихся генов участвуют в сигнальных путях интерферона и иммунном ответе, что соответствует ранее выдвинутой гипотезе о воспалительной или аутоиммунной природе шизофрении и расстройств аутистического спектра [57].

Нами были исследованы два пациента с реципрокными моногенными CNV — микроделецией и микродупликацией области 3p26.3, затрагивающими единственный ген *CNTN6* [58]. Полученные от пациентов при биопсии клетки кожи были репрограммированы в ИПСК. Дифференцированные из них впоследствии кортикальные нейроны были использованы для проведения полнотранскриптомного анализа, который выявил в клетках с микроделецией и микродупликацией 3p26.3 снижение экспрессии генов, продукты которых вовлечены в связанные с развитием ЦНС процессы [59]. Нарушение функционирования

общих биологических путей и процессов, вероятно, можно объяснить тем, что в случае как увеличения, так и уменьшения копияности *CNTN6* уровень экспрессии гена и, соответственно, кодируемого им белка оказался снижен [60]. Данный факт может объяснить феномен некоторых общих фенотипических признаков у пациентов с разнонаправленным изменением числа копий определенного участка ДНК.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На всем протяжении изучения хромосомных болезней актуальным оставался вопрос о фенотипических проявлениях патологического эффекта хромосомного дисбаланса. Несмотря на, казалось бы, логичное предположение о прямой связи между числом дозозависимых генов, вовлеченных в перестройку, и особенностями и тяжестью клинических эффектов мутации, остается без объяснения факт наличия схожих неспецифических фенотипических проявлений хромосомного дисбаланса различного уровня (от одного гена при моногенных и внутригенных CNV до нескольких тысяч — при числовых аномалиях хромосом). Подобные клинические признаки также могут быть обнаружены как у пациента в случае действия тератогенных факторов, так и у здоровых индивидов.

Исследования особенностей транскрипции генов, проведенные на доступном клеточном материале от пациентов с числовыми и структурными аномалиями хромосом, демонстрируют не только ожидаемое снижение/увеличение уровня экспрессии генов из региона перестройки, но также и глобальную дисрегуляцию экспрессии генов по всему геному. Примечательно, что данный парадокс касается не только крупных хромосомных aberrаций, но и CNV, затрагивающих всего несколько генов. Стоит отметить множественность генов, изменяющих свою экспрессию в результате хромосомного дисбаланса: число ДЭГ, выявляемых при проведении полнотранскриптомного анализа, зачастую превышает несколько сотен и тысяч генов. Сужение области изучаемого региона перестройки до нескольких генов, а в ряде случаев и одного гена не приводит к “упрощению” спектра ДЭГ. Данные особенности экспрессии, вероятно, указывают на глобальный характер нарушений транскрипционных процессов в клетке. Можно предположить, что столь широкие проявления экспрессионной дисрегуляции могут быть следствием нарушения топографии хромосомных территорий в пространстве клеточного ядра, внутри- и межхромосомных взаимодействий, вызванных избытком или недостатком генетического материала. Изменения пространственной организации хроматина

могут стать причиной нарушения разнообразных клеточных процессов: пролиферации, миграции, специфической рецепции и синтеза компонентов межклеточного матрикса, что в конечном итоге может привести к замедлению созревания клеточных и тканевых структур, сходно проявляющемуся у носителей разного типа перестроек недоразвитием, или “запаздыванием формообразования”, органа, как отмечали в своих исследованиях К.Н. Гринберг и В.И. Кухаренко [24].

Общий паттерн транскрипционных нарушений при анеуплоидиях, в частности однонаправленное изменение экспрессии ряда генов, указывает на общность затронутых геномной мутацией биологических путей и процессов, вне зависимости от хромосомы, вовлеченной в анеуплоидию.

Немногочисленные работы, направленные на изучение особенностей экспрессии генов при реципрокных микроструктурных абберациях, показывают, что большинство выявляемых ДЭГ, как в линиях с делецией, так и в линиях с дупликацией одного и того же хромосомного региона, демонстрируют либо противоположные изменения, либо однонаправленные изменения экспрессии в сравнении с контрольной группой. При этом разнонаправленное изменение дозы генов затрагивает одни и те же транскрипционные программы. Использование персонифицированных ИПСК пациентов с реципрокными CNV в качестве модельной системы изучения патогенеза хромосомной болезни дает уникальную возможность оценить экспрессионный дисбаланс в плюрипотентных клетках, отражающих самые ранние этапы эмбрионального развития. Стоит отметить, что в процессе направленной дифференцировки ИПСК в целевые типы клеток различия в профиле экспрессии исследованных линий усиливаются, что указывает на аккумуляцию транскрипционных изменений в процессе развития организма с хромосомной абберацией.

Полнотранскриптомные исследования зарекомендовали себя в качестве удобного инструмента изучения молекулярных основ патогенеза хромосомных болезней. Анализ особенностей экспрессии клеток с хромосомным дисбалансом позволяет не только изучать патогенез отдельной хромосомной болезни, но также выявлять общие закономерности изменения генной экспрессии у пациентов с различными типами хромосомных и геномных мутаций.

Исследование выполнено в рамках гранта РНФ № 14-15-00772 и темы государственного задания НИИ медицинской генетики ФГБНУ “Томский национальный исследовательский медицин-

ский центр РАН” (номер государственного учета НИОКТР АААА-А19-119020890005-5).

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Лебедев И.Н.* Хромосомные болезни // Наследственные болезни: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. с. 555–609.
2. *Каушеварова А.А., Лебедев И.Н., Назаренко Л.П.* Архитектура генома и хромосомные болезни. Синдромы реципрокных микроделений и микродупликаций. Томск: Печатная мануфактура, 2014. 56 с.
3. *Galassi F.M., Armocida E., Rühli F.J.* Angelman syndrome in the portrait of a child with a drawing by Giovanni F. Caroto // *JAMA Pediatr.* 2016. V. 170. № 9. P. 831. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2016.0581>
4. *Oranges C.M., Christ-Crain M., Schaefer D.J.* “La Monstrua Desnuda”: an artistic textbook representation of Prader–Willi syndrome in a painting of Juan Carreño de Miranda (1680) // *J. Endocrinol. Invest.* 2017. V. 40. № 6. P. 691–692. <https://doi.org/10.1007/s40618-017-0639-5>
5. *Eblovi D., Clardy C.* Charles Dickens and Barnaby Rudge: The first description of Williams syndrome? // *Pediatr. Ann.* 2016. V. 45. № 2. P. e67–e69. <https://doi.org/10.3928/00904481-20160113-03>
6. *Esquirol J.E.D.* Des maladies mentales considérées sous le rapport médicale, hygiénique et médico-legal. 2 volumes and atlas. Paris: Baillière, 1838.
7. *Seguin E.* Traitement moral, hygiène et éducation des idiots. Paris: Baillière, 1846.
8. *Down J.H.L.* The Mongolian idiocy. London Hospital Clin. Lectures and Adjournments (Transfers), 1866. V. 3.
9. *Ellis H.* John Langdon Down: Down’s syndrome // *J. Perioper. Pract.* 2013. V. 23. № 12. P. 296–297. <https://doi.org/10.1177/175045891302301206>
10. *Karamanou M., Kanavakis E., Mavrou A. et al.* Jérôme Lejeune (1926–1994): father of modern genetics // *Acta Med. Hist. Adriat.* 2012. V. 10. № 2. P. 311–316.
11. *Ford C.E., Jones K.W., Polani P.E. et al.* A sex-chromosome anomaly in a case of gonadal dysgenesis (Turner’s syndrome) // *Lancet.* 1959. V. 1. № 7075. P. 711–713. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(59\)91893-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(59)91893-8)
12. *Jacobs P.A., Strong J.A.* A case of human intersexuality having a possible XXY sex-determining mechanism // *Nature.* 1959. V. 183. № 4657. P. 302–303. <https://doi.org/10.1038/183302a0>
13. *Jacobs P.A., Baikie A.G., Brown W.M. et al.* Evidence for the existence of the human “super female” // *Lancet.*

1959. V. 2. № 7100. P. 423–425.  
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(59\)90415-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(59)90415-5)
14. *Patau K., Smith D.W., Therman E. et al.* Multiple congenital anomaly caused by an extra autosome // *Lancet*. 1960. V. 1. № 7128. P. 790–793.  
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(60\)90676-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(60)90676-0)
15. *Edwards J.H., Harnden D.G., Cameron A.H. et al.* A new trisomic syndrome // *Lancet*. 1960. V. 1. № 7128. P. 787–790.  
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(60\)90674-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(60)90674-7)
16. *Hirschhorn K., Cooper H.* Apparent deletion of short arms of one chromosome (4 or 5) in a child with defects of midline fusion // *Hum. Chromosom. Newslett IV*. 1961. № 14.
17. *Hirschhorn K.* A short history of the initial discovery of the Wolf–Hirschhorn syndrome // *Am. J. Med. Genet. C. Semin. Med. Genet.* 2008. V. 148. № 4. P. 244–245.  
<https://doi.org/10.1002/ajmg.c.30186>
18. *Watson C.T., Tomas M.-B., Sharp A.J., Mefford H.C.* The genetics of microdeletion and microduplication syndromes: An Update // *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 2014. V. 15. № 1. P. 215–244.  
<https://doi.org/10.1146/annurev-genom-091212-153408>
19. *Ewart A.K., Morris C.A., Atkinson D. et al.* Hemizygosity at the elastin locus in a developmental disorder, Williams syndrome // *Nat. Genet.* 1993. V. 5. № 1. P. 11–16.  
<https://doi.org/10.1038/ng0993-11>
20. *Berdon W.E., Clarkson P.M., Teele R.L.* Williams–Beuren syndrome: historical aspects // *Pediatr. Radiol.* 2011. V. 41. № 2. P. 262–266.  
<https://doi.org/10.1007/s00247-010-1908-z>
21. *Izumi K., Krantz I.D.* Pallister–Killian syndrome // *Am. J. Med. Genet. Part C Semin. Med. Genet.* 2014. V. 166. № 4. P. 406–413.  
<https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31423>
22. *Powis Z., Kang S.-H.L., Cooper M.L. et al.* Mosaic tetrasomy 12p with triplication of 12p detected by array-based comparative genomic hybridization of peripheral blood DNA // *Am. J. Med. Genet. A.* 2007. V. 143. № 24. P. 2910–2915.  
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.31959>
23. *Truty R., Paul J., Kennemer M. et al.* Prevalence and properties of intragenic copy-number variation in Mendelian disease genes // *Genet. Med.* 2019. V. 21. № 1. P. 114–123.  
<https://doi.org/10.1038/s41436-018-0033-5>
24. *Гринберг К.Н., Кухаренко В.И.* Реализация фенотипического эффекта хромосомных аномалий у человека // *Вавиловский журн. генетики и селекции*. 2013. Т. 17. № 1. С. 32–39.
25. *Taylor A.I.* Autosomal trisomy syndromes: a detailed study of 27 cases of Edwards’ syndrome and 27 cases of Patau’s syndrome // *J. Med. Genet.* 1968. V. 5. № 3. P. 227–252.  
<https://doi.org/10.1136/jmg.5.3.227>
26. *Kloosterman W.P., Hochstenbach R.* Deciphering the pathogenic consequences of chromosomal aberrations in human genetic disease // *Mol. Cytogenet.* 2014. V. 7. № 1:100. P. 12.  
<https://doi.org/10.1186/s13039-014-0100-9>
27. *Hindley D., Medakkar S.* Diagnosis of Down’s syndrome in neonates // *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.* 2002. V. 87. № 3. P. F220–F221.  
<https://doi.org/10.1136/fn.87.3.f220>
28. *Sivakumar S., Larkins S.* Accuracy of clinical diagnosis in Down’s syndrome // *Arch. Dis. Child.* 2004. V. 89. № 7. P. 691–693.  
<https://doi.org/10.1136/adc.2003.046565>
29. *Popadin K., Peischl S., Garieri M. et al.* Slightly deleterious genomic variants and transcriptome perturbations in Down syndrome embryonic selection // *Genome Res.* 2018. V. 28. № 1. P. 1–10.  
<https://doi.org/10.1101/gr.228411.117>
30. *Volk M., Maver A., Hodžić A. et al.* Transcriptome profiling uncovers potential common mechanisms in fetal trisomies 18 and 21 // *OMICS.* 2017. V. 21. № 10. P. 565–570.  
<https://doi.org/10.1089/omi.2017.0123>
31. *Kaur M., Izumi K., Wilkens A.B. et al.* Genome-wide expression analysis in fibroblast cell lines from probands with Pallister Killian syndrome // *PLoS One.* 2014. V. 9. № 10:e108853. P. 12.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108853>
32. *Takahashi K., Yamanaka S.* Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors // *Cell.* 2006. V. 126. № 4. P. 663–676.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.07.024>
33. *Wernig M., Meissner A., Foreman R. et al.* In vitro reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state // *Nature.* 2007. V. 448. № 7151. P. 318–324.  
<https://doi.org/10.1038/nature05944>
34. *Yamanaka S.* Strategies and new developments in the generation of patient-specific pluripotent stem cells // *Cell Stem Cell.* 2007. V. 1. № 1. P. 39–49.  
<https://doi.org/10.1016/j.stem.2007.05.012>
35. *Некрасов Е.Д., Лебедева О.С., Честков И.В. и др.* Получение и характеристика индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека из фибробластов кожи пациентов с нейродегенеративными заболеваниями // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2011. Т. VI. № 4. С. 82–88.
36. *Xie Y.Z., Zhang R.X.* Neurodegenerative diseases in a dish: the promise of iPSC technology in disease modeling and therapeutic discovery // *Neurol. Sci.* 2015. V. 36. № 1. P. 21–27.  
<https://doi.org/10.1007/s10072-014-1989-9>
37. *Ross C.A., Akimov S.S.* Human-induced pluripotent stem cells: potential for neurodegenerative diseases // *Hum. Mol. Genet.* 2014. V. 23. № R1. P. R17–R26.  
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddu204>
38. *McKinney C.* Using induced pluripotent stem cells derived neurons to model brain diseases // *Neural Regen. Res.* 2017. V. 12. № 7. P. 1062–1067.  
<https://doi.org/10.4103/1673-5374.211180>
39. *Hung S.S.C., Khan S., Lo C.Y. et al.* Drug discovery using induced pluripotent stem cell models of neurodegenerative and ocular diseases // *Pharmacol. Ther.*

2017. V. 177. P. 32–43.  
<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.02.026>
40. *Korecka J.A., Levy S., Isacson O.* In vivo modeling of neuronal function, axonal impairment and connectivity in neurodegenerative and neuropsychiatric disorders using induced pluripotent stem cells // *Mol. Cell. Neurosci.* 2016. V. 73. P. 3–12.  
<https://doi.org/10.1016/j.mcn.2015.12.004>
  41. *Gillentine M.A., Yin J., Bajic A. et al.* Functional consequences of *CHRNA7* copy-number alterations in induced pluripotent stem cells and neural progenitor cells // *Am. J. Hum. Genet.* 2017. V. 101. № 6. P. 874–887.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.09.024>
  42. *Малахова А.А., Сорокин М.А., Сорокина А.Е. и др.* Использование методов редактирования генома для создания изогенных клеточных линий, моделирующих болезнь Хантингтона *in vitro* // *Гены & клетки.* 2016. Т. XI. С. 106–113.
  43. *Nekrasov E.D., Vigont V.A., Klyushnikov S.A. et al.* Manifestation of Huntington's disease pathology in human induced pluripotent stem cell-derived neurons // *Mol. Neurodegener.* 2016. V. 11(27). P. 15.  
<https://doi.org/10.1186/s13024-016-0092-5>
  44. *Коваленко В.Р., Хабарова Е.А., Рзаев Д.А., Медведев С.П.* Клеточные модели, геномные технологии и клиническая практика: синтез знаний для исследования механизмов, диагностики и терапии болезни Паркинсона // *Гены & клетки.* 2017. Т. XII. № 2. С. 11–28.  
<https://doi.org/10.23868/201707012>
  45. *Лебедин М.Ю., Майорова К.С., Максимов В.В. и др.* Использование технологий репрограммирования соматических клеток и редактирования генома для создания модельной системы болезни Штаргардта с целью ее изучения и терапии // *Гены & клетки.* 2017. Т. XII. № 2. С. 62–70.  
<https://doi.org/10.23868/201707021>
  46. *Честков Е.В., Васильева Е.А., Иллариошкин С.Н. и др.* Создание модели бокового амиотрофического склероза на основе пациент-специфических индуцированных плюрипотентных стволовых клеток // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* 2013. Том VIII. № 3. С. 58–59.
  47. *Григорьева Е.В., Валетдинова К.Р., Устьянцева Е.И. и др.* Дифференцировка в нейральном направлении пациент-специфичных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток от больных с наследственной формой спинальной мышечной атрофии // *Гены & клетки.* 2016. Т. XI. № 2. С. 70–81.
  48. *Khattak S., Brimble E., Zhang W. et al.* Human induced pluripotent stem cell derived neurons as a model for Williams–Beuren syndrome // *Mol. Brain.* 2015. V. 8. № 1(77). P. 11.  
<https://doi.org/10.1186/s13041-015-0168-0>
  49. *Li L.B., Chang K.-H., Wang P.-R. et al.* Trisomy correction in Down syndrome induced pluripotent stem cells // *Cell Stem Cell.* 2012. V. 11. № 5. P. 615–619.  
<https://doi.org/10.1016/j.stem.2012.08.004>
  50. *Weick J.P., Held D.L., Bonadurer G.F. et al.* Deficits in human trisomy 21 iPSCs and neurons // *Proc. Natl Acad. Sci.* 2013. V. 110. № 24. P. 9962–9967.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1216575110>
  51. *Jiang J., Jing Y., Cost G.J. et al.* Translating dosage compensation to trisomy 21 // *Nature.* 2013. V. 500. № 7462. P. 296–300.  
<https://doi.org/10.1038/nature12394>
  52. *Hibaoui Y., Grad I., Letourneau A. et al.* Modelling and rescuing neurodevelopmental defect of Down syndrome using induced pluripotent stem cells from monozygotic twins discordant for trisomy 21 // *EMBO Mol. Med.* 2014. V. 6. № 2. P. 259–277.  
<https://doi.org/10.1002/emmm.201302848>
  53. *Letourneau A., Santoni F.A., Bonilla X. et al.* Domains of genome-wide gene expression dysregulation in Down's syndrome // *Nature.* 2014. V. 508. № 7496. P. 345–350.  
<https://doi.org/10.1038/nature13200>
  54. *Gonzales P.K., Roberts C.M., Fonte V. et al.* Transcriptome analysis of genetically matched human induced pluripotent stem cells disomic or trisomic for chromosome 21 // *PLoS One.* 2018. V. 13. № 3:e0194581. P. 22.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194581>
  55. *Adamo A., Atashpaz S., Germain P.-L. et al.* 7q11.23 dosage-dependent dysregulation in human pluripotent stem cells affects transcriptional programs in disease-relevant lineages // *Nat. Genet.* 2015. V. 47. № 2. P. 132–141.  
<https://doi.org/10.1038/ng.3169>
  56. *Germain N.D., Chen P.-F., Plocik A.M. et al.* Gene expression analysis of human induced pluripotent stem cell-derived neurons carrying copy number variants of chromosome 15q11-q13.1 // *Mol. Autism.* 2014. V. 5. № 1(44). P. 19.  
<https://doi.org/10.1186/2040-2392-5-44>
  57. *Chen J., Lin M., Hrabovsky A. et al.* ZNF804A transcriptional networks in differentiating neurons derived from induced pluripotent stem cells of human origin // *PLoS One.* 2015. V. 10. № 4:e0124597. P. 23.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124597>
  58. *Kashevarova A.A., Nazarenko L.P., Schultz-Pedersen S. et al.* Single gene microdeletions and microduplication of 3p26.3 in three unrelated families: *CNTN6* as a new candidate gene for intellectual disability // *Mol. Cytogenet.* 2014. V. 7. № 1:97. P. 10.  
<https://doi.org/10.1186/s13039-014-0097-0>
  59. *Lopatkina M.E., Fishman V.S., Gridina M.M. et al.* Patterns of gene expression in neurons derived from induced pluripotent stem cells of patients with reciprocal 3p26.3 microdeletion and microduplication // *Comp. Cytogenet.* 2018. V. 12. № 3. P. 320–321.  
<https://doi.org/10.3897/CompCytogen.v12i3.27448>
  60. *Gridina M.M., Matveeva N.M., Fishman V.S. et al.* Allele-specific biased expression of the *CNTN6* gene in iPSC cell-derived neurons from a patient with intellectual disability and 3p26.3 microduplication involving the *CNTN6* gene // *Mol. Neurobiol.* 2018. V. 55. № 8. P. 6533–6546.  
<https://doi.org/10.1007/s12035-017-0851-5>

## Transcriptome Analysis as a Tool for Investigation of Pathogenesis of Chromosomal Diseases

M. E. Lopatkina<sup>a,\*</sup> and I. N. Lebedev<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, 634050 Russia*

*\*e-mail: maria.lopatkina@medgenetics.ru*

The aspects of transcriptional profiles of cells with chromosomal imbalance are discussed. There are certain difficulties in the assessment of phenotypic manifestations of chromosomal and genomic mutations. The data that whole transcriptome analysis is as an important new tool for investigation of the pathogenesis of chromosomal diseases related to aneuploidies, as well as microdeletion and microduplication syndromes are described. The general patterns of gene expression changes of cells with chromosomal imbalance are highlighted: global dysregulation of gene expression; the similarity of transcriptional changes in cells with different aneuploidies or reciprocal copy number variations; common biological pathways and processes, affected by mutations; the accumulation of transcriptional changes during ontogenesis.

**Keywords:** chromosomal diseases, aneuploidies, copy number variation, microdeletion and microduplication syndromes, transcriptome analysis, differential gene expression.